This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

HC 2161 U

S. Granits,

Methodik der Blutuntersuchungen

Otto Enslin Berlin

T1902 2

A 7.J.1902.2

Harvard Medical School

Bowditch Library
Transferred to Central Library
July 1929
Purchased

346
347 3/5
.11 (018)

Methodik

der

klinischen

Blut-Untersuchungen.

Von

Dr. Ernst Grawitz,

Professor an der Universität Berlin,
Dirigierender Arzt der inneren Abteilung des städtischen Krankenhauses zu Charlottenburg.

Mit 17 Figuren im Text und 5 Tafeln in Farbendruck.

Zweite vermehrte und verbesserte Auflage.

Berlin 1902.
Verlag von Otto Enslin.
NW 6, Karlstraße 32.

11(018)

LIBRARY OF THE
HARVARD MEDICAL SCHOOL

Vorwort zur ersten Auflage.

Nach dem Erscheinen der „klinischen Pathologie des Blutes“ ist mir von verschiedensten Seiten wiederholt der Wunsch ausgesprochen worden, als Anhang zu diesem Werke eine zusammenhängende Übersicht über die Methoden der Blutuntersuchungen erscheinen zu lassen und damit eine Anweisung über den zweckmässigsten Gang derartiger Untersuchungen zu verbinden.

Diesen Wünschen bin ich mit dem vorliegenden Hefte nachgekommen, das keine Encyklopädie, sondern eine rationelle Auswahl der klinisch wichtigsten Blutuntersuchungs-Methoden darstellen soll und im wesentlichen aus den Erfahrungen heraus zusammengestellt ist, welche ich seit Jahren in praktischen Kursen gesammelt habe.

Gewisse komplizierte Apparate, z. B. zur Hämoglobinometrie, deren genaue Handhabung eine seitenlange Beschreibung erfordern würde, sind hier nur im Prinzip erläutert worden, da für ihre Anwendung in der Praxis von den Fabrikanten genaue Gebrauchsanweisungen beim Bezuge der Apparate mitgeliefert werden.

Charlottenburg, 7. Februar 1899.

Der Verfasser.

Vorwort zur zweiten Auflage.

In dieser Auflage ist besonders die Technik der histologischen Untersuchungen des Blutes erweitert worden und durch Beigabe farbiger Tafeln die Diagnostik der normalen und pathologischen Zellformen im Blute und Knochenmarke erleichtert worden.

Charlottenburg, 25 Februar 1902.

Der Verfasser.

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Kapitel.

Die Zwecke klinischer Blutuntersuchungen und ihre Bedeutung für die allgemeine Pathologie. 3—6

II. Kapitel.

Die Entnahme des Blutes. Die Untersuchungsmethoden für histologische und bakteriologische Zwecke. 7—20

A. Die Entnahme kleiner Blutströpfchen 7
Die Entnahme gröfserer Mengen von Blut 7
Venenpunktion 8
Blutentnahme bei Tierexperimenten 9
Apparate zum Auffangen des Blutes 10
B. Die histologische Untersuchung frischer Präparate 11
Die histologische Untersuchung von Trockenpräparaten 11
Fixation derselben 12
Farbstoffe 13
Kombinierte Färbungen 14
C. Untersuchungen auf Mikroorganismen 17
Widal'sche Reaktion 18
Malariaparasiten 19

III. Kapitel.

Die physikalisch-chemischen Untersuchungsmethoden. 21—44

1. Die Blutkörperchenzählungen 21
2. Die Bestimmung des spez. Gewichtes des Blutes 24
3. Die Bestimmung des Trockenrückstandes 25
4. Stickstoffbestimmungen 26
5. Hämoglobinometrie 26
6. Die Untersuchung des Blutserum 31
7. Das Volumen der roten Blutkörperchen 33
8. Spektroskopische Untersuchungen 35
9. Blutkrystalle 37
10. Alkalescenzbestimmungen 37
11. Die Widerstandsfähigkeit der roten Blutkörperchen und der osmotische Druck der Blutflüssigkeit 40
12. Jodreaktion im Blute 43
13. Fett im Blute 44

I. Teil.

Die Methoden der Blutuntersuchungen.

I. Kapitel.

Die Zwecke klinischer Blutuntersuchungen und ihre Bedeutung für die allgemeine Pathologie.

Die Untersuchungen am Blute des Lebenden haben seit Alters ein besonderes Interesse für Physiologen und Kliniker gehabt, weil dieses flüfsige, für die Erhaltung des ganzen Organismus so eminent wichtige Gewebe verhältnismäfsig leicht für Untersuchungszwecke gewonnen werden kann und weil man sich versprechen konnte, aus dem genauen Studium der Zusammensetzung gerade dieses Gewebes, welches an den vitalen Vorgängen aller Organe einen so innigen und wichtigen Anteil hat, Rückschlüsse auf den Stoffverbrauch des ganzen Organismus zumal in krankhaften Zuständen ziehen zu können.

Dieser Gedanke zeigt sich, wenn auch nicht direkt ausgesprochen, so doch in der Anordnung und Tendenz der Untersuchungen wie besonders in den hieraus gezogenen Schlufsfolgerungen deutlich genug als Leitmotiv für die älteren — man darf wohl sagen „klassischen" Arbeiten von Becquerel und Rodier, von Nasse, C. A. Schmidt, Panum, Heidenhain u. a., welche bei ihren Untersuchungen in erster Linie die allgemeinen quantitativen Mischungsverhältnisse des Blutes in physiologischen Zuständen und sodann unter gewissen pathologischen Bedingungen, z. B. bei Nahrungsentziehung, bei manchen Krankheiten etc. studierten.

Daneben wurden schon in dieser älteren Periode durch die histologischen Untersuchungen von Virchow, Max Schultze u. a. die Hauptformen der farblosen Blutzellen festgestellt, es wurden die Lebensäufserungen dieser Zellen im physiologischen Experimente erforscht, kurz, der Grund zu unsern heutigen Kenntnissen von den zelligen Gebilden des Blutes gelegt.

Als dann später Ehrlich lehrte, durch zweckmäfsig kombinierte Farbstoffe die feineren histologischen Details der Blutzellen mit gröfserer Sicherheit als am frischen Präparate zu erkennen, wandte

sich das Interesse der Untersuchungen so vorwiegend dieser histologischen Seite der Blutuntersuchung zu, dafs die Ermittelungen der allgemeinen Mischungsverhältnisse dagegen ganz in den Hintergrund traten.

Ebenso haben dann weiterhin die bakteriologischen Forschungen am Blute zumal im Gebiete der Infektionskrankheiten so stark prävaliert, dafs die Kenntnisse über das Verhalten des Gesamtblutes in dieser Periode fast gar nicht gefördert worden sind, und wenn man manche umfangreiche Werke über das Verhalten des Blutes bei Infektionskrankheiten, selbst aus der neuesten Zeit durchliest, könnte man glauben, dafs es nur die Leukocyten und Bakterien sind, deren Verhalten hierbei von Interesse ist.

Auch die Einführung gewisser exakter Untersuchungsapparate, wie besonders des Zählapparates, hat zwar infolge ihrer leichten Handhabung eine grofse Menge von Untersuchungsresultaten an die Öffentlichkeit gebracht, indessen beweisen die scheinbar exakten Zahlen, die hiermit gewonnen sind, an und für sich recht wenig für das Mischungsverhältnis des Gesamtblutes, und besonders die kritiklosen Mitteilungen von Zahlenverhältnissen der roten Blutkörperchen in Krankheiten, ohne Erläuterung des status praesens des Kranken zur Zeit der Untersuchung, haben uns eine Fülle von widersprechenden Angaben bei den einzelnen Krankheiten verschafft, aus denen es bei näherer Sichtung sehr schwierig ist, das Richtige herauszufinden.

Noch weniger segensreich haben sich die mit den älteren Hämoglobinometern gewonnenen Untersuchungs-Resultate erwiesen, da mit diesen, auf einfacher Farbvergleichung beruhenden und daher fehlerreichen Instrumenten Zahlenangaben gewonnen wurden, welche an und für sich unsicher waren, besonders aber dann zu ganz unrichtigen Schlüssen führten, wenn man sie in direkte Relation zu andern zahlenmäfsig ermittelten Werten, z. B. zur Zahl der roten Blutkörperchen, brachte, und manche irrige Angaben, wie z. B. von dem angeblich hohen Hb-Gehalt der Zellen bei perniciöser Anämie, pflanzen sich seit dieser Epoche von Buch zu Buch fort, obwohl diese falsche Angabe unserer ganzen heutigen Auffassung von den Vorgängen im Blute bei perniciöser Anämie direkt gegenübersteht.

Gegenüber den erwähnten Tendenzen, das Blut einseitig nach dieser oder jener Richtung hin zu explorieren, halte ich es für angezeigt, auf das Vorbild hinzuweisen, welches uns die älteren Autoren mit ihren vielseitigen Forschungs-Ergebnissen gegeben haben, aus denen wir noch, wenn auch mancher Teil ihrer Technik veraltet erscheint, ein klares Bild der Zusammensetzung des Blutes in verschiedenen pathologischen Zuständen gewinnen können.

Die Bedeutung und der Zweck klinischer Blutunter-

suchungen liegen auf einem viel weiteren Gebiete, als dem, welches die Erforschung der histologischen Elemente umfafst. Das Blut nimmt an allen krankhaften Vorgängen im Organismus unmittelbaren Anteil, und man soll daher bei Blutuntersuchungen am Kranken nicht die Veränderungen des Blutgewebes allein, sondern den Gesamtorganismus berücksichtigen, dessen krankhafte Veränderungen oft genug im Blute ihren deutlich mefsbaren Ausdruck finden.

Der gesteigerte Stoffzerfall äufsert sich häufig in leicht erkennbarer Weise im Blute ebenso, wie vermehrter Stoffansatz in Änderungen der Blutzusammensetzung, doch würden uns diese Verhältnisse zumeist völlig unbekannt bleiben, wenn wir uns nur mit der Beschaffenheit und Zahl der Zellen beschäftigten, die bei der überwiegenden Mehrzahl der gewöhnlichen sekundären Anämieen morphologisch gar nicht und quantitativ ganz unregelmäfsig verändert sind.

Wie ich an verschiedenen Stellen gezeigt habe, ist es bei vielen Anämieen im Gefolge von Krankheiten, Unterernährung etc. der Eiweifsgehalt der Intercellularflüssigkeit des Blutes, welcher die ersten und wesentlichsten Verschlechterungen der Blutmischung anzeigt, und es ist daher dem Verhalten der Blutflüssigkeit bei allen Untersuchungen eine viel gröfsere Aufmerksamkeit zu widmen, als bisher im allgemeinen üblich war, wenn man die Aufgaben der Blutuntersuchungen nicht in den engen Rahmen isolierter histologischer oder bakteriologischer Forschungen fafst, sondern von dem weiteren Gesichtspunkte ausgeht, dafs aus dem Blutbefunde ein Anhalt für den allgemeinen Stoffwechsel zu gewinnen ist.

Bei akuten, in ihren Erscheinungen wechselreichen Erkrankungen, besonders bei vielen Infektionskrankheiten ist es möglich, durch sorgfältige Blutuntersuchungen einen gewissen Ersatz für die hier nicht gut anwendbaren Stoffwechsel-Untersuchungen mit Bestimmung des eingeführten und ausgeschiedenen Stickstoffes zu gewinnen. Wir können z. B. die intensive protoplasmazerstörende Wirkung septiko-pyämischer Erkrankungen an der rapiden Eiweifs-Abnahme im Blute und speziell im Serum studieren, wir können die Einwirkung schwerer dysenterischer Darminfektionen auf den Organismus an dem Verhalten des Blutes erkennen, und bei richtiger Erwägung aller vorhandenen Erscheinungen läfst sich nicht selten die Frage entscheiden, ob bei dieser oder jener Krankheit ein spezifisches Zellgift wirksam ist.

Für alle diese Fragen können die Ermittelungen des Verhältnisses von Blutzellen zur Blutflüssigkeit von grofser Wichtigkeit sein, und es verdienen daher diese Untersuchungen, welche z. B. bei C. A. Schmidt für das Cholerablut die wertvollsten Ergebnisse

geliefert haben, zur Vervollständigung der allgemeinen Blut-Analyse die gröfste Aufmerksamkeit.

Die Zusammensetzung des Blutes schwankt bekanntlich in ziemlich weiten physiologischen Grenzen, und es ist daher oft schwer zu sagen, ob zahlenmäfsige Werte, die bei einmaliger Untersuchung gewonnen sind, noch als gesundhafte anzusehen sind. Noch schwieriger ist es natürlich, aus gröfseren Reihen solcher Einzelzahlen von verschiedenen Individuen Rückschlüsse auf den Charakter der in Frage stehenden Krankheit zu ziehen.

Ich habe daher seit langem die Anschauung vertreten, dafs wir auf keinem Wege besser in die Natur der Blutveränderungen bei Krankheiten eindringen können, als wenn man bei einem und demselben Individuum fortlaufend zu verschiedenen Zeiten Blutuntersuchungen anstellt und aus der Vergleichung der einzelnen Werte unter sorgfältiger Berücksichtigung des jeweiligen Status des Patienten seine Schlüsse zieht.

Die starken Schwankungen, welche der Flüssigkeitsgehalt des Blutes z. B. durch übermäfsige Zufuhr oder längere Entziehung wasserreicher Nahrung, durch Temperatursteigerung, Schwitzen, profuse Sekretionen u. v. a. Momente erleiden kann, bringen es mit sich, dafs einzelne morphologische Elemente, ebenso wie der Eiweifsgehalt und selbst die Alkalescenz in der Raumeinheit eines untersuchten Bluttropfens Schwankungen unterliegen können, welche an sich gar nichts mit der Krankheit zu thun haben, sondern lediglich durch die physikalischen Veränderungen der Gesamtblutmasse bedingt sind. Diese Verhältnisse müssen auf das sorgfältigste berücksichtigt werden und können mit Sicherheit nur erkannt werden, wenn man die Konzentration des Blutes selbst und sein Verhältnis zum Serum ermittelt.

Will man die Veränderungen des Blutgewebes bei Krankheiten in zuverlässiger Weise studieren, so mufs man nach dem Gesagten berücksichtigen:

1. Den status praesens des Kranken zur Zeit der Untersuchung.
2. Die Tageszeit, besonders auch in Rücksicht auf stattgehabte Nahrungsaufnahme.
3. Die Untersuchung frischer und gefärbter Präparate.
4. Die Ermittelung der Zahl der roten und der farblosen Zellen.
5. Die Bestimmung der Konzentration des ganzen Blutes.
6. Die Bestimmung der Konzentration des Serum.
7. Für manche Zwecke die Bestimmung der Volumverhältnisse zwischen Serum- und roter Blutkörperchensubstanz.

II. Kapitel.

Die Entnahme des Blutes. Die Untersuchungsmethoden für histologische und bakteriologische Zwecke.

A. Die Entnahme des Blutes.

Zur Untersuchung für klinische Zwecke dienen:

1. Kleine Blutströpfchen, die man durch Einstich mittels einer scharfen Nadel oder Lanzette am besten in die Haut des mit Äther gereinigten Ohrzipfels gewinnt. Stiche in die Fingerbeere sind schmerzhafter, bei schwieligen Arbeiterhänden unverhältnismäfsig tief und können leichter zu einer Infektion führen.

Besondere Instrumente zum Einstich mit Reguliervorrichtung zur Abmessung der Tiefe des Stiches sind erfunden, scheinen mir aber unnötig.

2. Grössere Mengen von einigen Dezigramm Blut und mehr zu quantitativen Bestimmungen der Bestandteile des Blutes.

Bei ihrer Gewinnung mufs auf das sorgsamste darauf geachtet werden, dafs nicht durch Druck oder Quetschung der Wunde oder durch Stauung der Venenstämme Änderungen der Blutmischung künstlich hervorgerufen werden, das Blut mufs vielmehr möglichst frei und schnell ausfliefsen. Dies erreicht man:

a) Durch ausgiebige Schnitte in die Haut, die, wenn sie flach sind, vorzugsweise kapillares Blut liefern, während tiefere Incisionen in die Subcutis meist ein mehr dunkles, venöses Blut ergeben. Selbst bei ziemlich grofsen Schnitten ist es schwer, ohne zu drücken, mehr als 1 ccm Blut aus der Haut zu erhalten.

b) Durch Punktion einer oberflächlichen Vene, am besten am Vorderarm. Hierzu benutzt man scharfe metallene Kanülen, welche durch trockene Hitze sterilisiert werden. Der Venenstamm wird durch leichte Digitalkompression zum Anschwellen gebracht und nach Desinfektion der Haut die möglichst scharfe Kanüle in die Vene der Längs-

richtung nach mehr eingeschoben als eingestochen, worauf das Blut in schneller Tropfenfolge hervorquillt und in beliebigen Gefäfsen aufgefangen werden kann.

Die ersten Tropfen Blut, welche infolge der Stauung alteriert sein können (Zuntz), läfst man am besten unbenutzt.

Zweckmäfsig benutzt man Punktionskanülen, wie ich sie seit

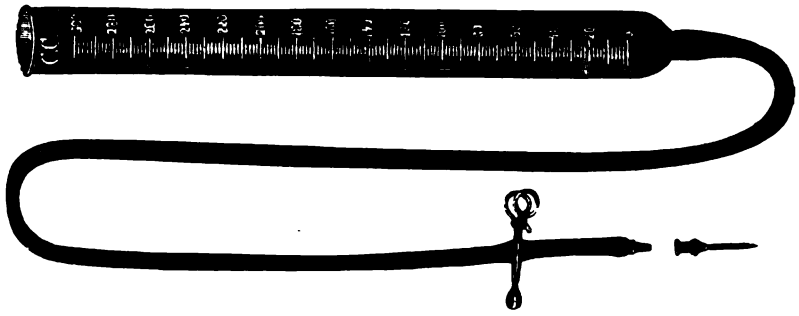
Venenpunktion.

Jahren anfertigen lasse, welche ein metallenes Ansatzstück für Befestigung eines Irrigatorschlauches haben. Man kann die Kanülen dann auch zu Transfusionen benutzen, indem man zuerst die Kanüle in die Vene einführt und die richtige Ausführung durch das Austropfen des Blutes kontrolliert, alsdann das Ansatzstück des mit dem Transfusionsmaterial gefüllten Irrigators in die Kanüle einführt und nach Lösung der Schlauchklemme die Flüssigkeit einströmen läfst.

Punktionskanüle.

Ebenso läfst sich ein Aderlafs sehr bequem mit diesen Kanülen ausführen, nur thut man gut, um die Reibung an den Innenflächen der Kanüle und damit eine vorzeitige Koagulation innerhalb derselben zu verhüten, die Innenfläche durch Einölung mittels eines passenden Stopfens zu glätten. Es lassen sich dann mit nicht zu engen Kanülen leicht 200 ccm Blut aus der Vene entleeren.

Die Vorzüge dieser Art der Blutentnahme liegen nach mehreren Richtungen hin. Zunächst ist der Stich mit der scharfen Nadel für den Kranken weit weniger belästigend, als die Anlegung einer ausgiebigen Incision. Sodann erhält man das Blut so



Punktionsapparat.

schnell, dafs keine Verdunstung oder vorzeitige Gerinnung eintreten kann, ferner völlig unvermischt direkt aus dem Gefäfse und in jeder beliebigen Quantität. Auch für die Aussaat von Blut auf Bakterien-Nährböden empfiehlt sich diese Methode, bei welcher das Blut mit der denkbar geringsten Möglichkeit äufserlicher Verunreinigung direkt auf die Nährsubstrate tropft.

Blutentnahme aus der vena jugularis beim Tier.

c) Bei Tierexperimenten mufs man, wenn es sich um die Gewinnung nicht zu kleiner Quantitäten Blut handelt, sorgfältig jede venöse Stauung vermeiden. Man kann bei Kaninchen das Blut während des Experimentierens aus der Carotis entnehmen, die zu diesem Zwecke frei präpariert mit passenden Klemmen oder Schlingen versehen und zwischen letzteren angeschnitten wird. Immer liegt hier bei mehr-

maligem Öffnen und Schliefsen der Arterie die Gefahr eines störenden, stärkeren Blutverlustes vor.

Sehr leicht und ohne Stauung sowie Blutverlust kann man fortgesetzt Blut aus einer Vene entnehmen, wenn man z. B. die Teilungsstelle der Jugularis beim Hund oder Kaninchen frei präpariert, den einen Ast und Hauptstamm des Gefäfses frei läfst und den anderen Ast dicht über der Bifurkation öffnet und abklemmt. Man kann dann leicht nach Öffnung der Klemme von diesem Seitenaste her ein Röhrchen in den Hauptstamm einführen und beliebig oft ungestautes Venenblut entnehmen.

d) Gröfsere Quantitäten Blut kann man beim Menschen auch durch Schröpfen erlangen. Das Vakuum des Schröpfkopfes saugt indes neben dem Blut stets unkontrollierbare und je nach der Saugkraft verschiedene Quantitäten Gewebssaft aus der Haut (E. Grawitz), und das so gewonnene Blut ist daher zu quantitativen Analysen nicht mit Sicherheit zu verwenden. Dagegen läfst sich bei sicherer Sterilisation der Instrumente und Desinfektion der Haut das Schröpfblut sehr gut zu bakteriologischen Zwecken verwerten.

e) Leichenblut ist weder für Bestimmungen der Konzentrationsverhältnisse noch für bakteriologische Untersuchungen zu verwenden.

3. Zum Auffangen des Blutes dienen aufser den für spezielle Zwecke konstruierten Pipetten z. B. des Zählapparates:

a) Wiegeschälchen verschiedener Gröfse mit luftdicht schliefsendem Stöpsel.

b) Glasröhrchen von der Form der Lymphröhrchen, jedoch weniger bauchig, sondern mehr cylindrisch, mit spitz zulaufenden zugeschmolzenen Enden.

Glasröhrchen. ($^1/_2$ der natürl. Grösse.)

Diese Röhrchen lassen sich für alle möglichen Zwecke benutzen, z. B. bei der Bestimmung des spez. Gewichtes, zur Übertragung von Blutstropfen auf flüssige Medien, zur Gewinnung kleiner Mengen von Serum, zum sterilen Auffangen und Konservieren von Blut, wobei nach Füllung des Gläschens die Enden zugeschmolzen werden.

c) Zentrifugiergläschen mit oder ohne Graduierung.

d) Standgefäfse von cylindrischer Form zum Auffangen gröfserer Mengen Blut.

e) Kleine Gefäfse nach Biernacki zur spontanen Blutsedimentierung (s. u.).

B. Die histologischen Untersuchungs-Methoden.

1. Frische Präparate. Wie bei mikroskopischen Untersuchungen aller Gewebe mufs auch beim Blute rationellerweise zuerst das frische ungehärtete und ungefärbte Präparat betrachtet werden. So leicht das Material dazu zu gewinnen ist, so mufs doch eine Reihe von Vorsichtsmafsregeln bei der Herstellung des frischen Blutpräparates beobachtet werden.

a) Es müssen spiegelblanke, am besten mit Alkohol oder Äther gereinigte Deck- und Objektgläser benutzt werden.

b) Die Finger dürfen beim Anfassen des Deckgläschens nicht feucht sein, da letzteres sonst beschlägt und eventuell Alterationen der Zellen auftreten (Ehrlich); man benutzt daher mit Vorteil Pincetten zum Abheben des Blutströpfchens

c) Der Blutstropfen mufs unmittelbar nach dem Hervorquellen und ohne Berührung der Haut an seiner Kuppe mit dem Deckgläschen abgehoben und schnell auf das Objektglas gelegt werden.

d) Bei richtiger Ausführung verteilt sich sofort das Blut kreisförmig in feinster kapillärer Schicht zwischen den beiden Gläschen, so dass besonders im Centrum alle Zellen einzeln neben einander liegen und nur nach der Peripherie zu Verklebungen in Geldrollenform eintreten.

Auf diese Weise ist es möglich, die einzelnen Zellen wirklich isoliert betrachten zu können, verklumpte Präparate sind besonders für das Studium der roten Zellen unbrauchbar.

e) Jeder Druck oder seitliche Verschiebung des Deckgläschens ist zu vermeiden, da hierdurch irritierende Kunstprodukte geschaffen werden.

Von Arnold ist empfohlen worden, das frische Blutströpfchen mit feinsten Hollundermarkblättchen aufzufangen und die Zellen in den Maschen des Hollundermarkes zu studieren.

Für gewisse Zwecke (Studium von Blutparasiten, amöboider Bewegung der Leukocyten etc.) ist die Beobachtung des frischen Bluttropfens am erwärmten Objekttisch, oder besser im erwärmten Kasten notwendig. Ein empfehlenswertes Modell bietet der von Nuttall angegebene Apparat.

2. Trockenpräparate werden derartig hergestellt, dafs das Blut in feinster Schicht auf den Deckgläschen verteilt wird. Zu diesem Zwecke fafst man zwei Deckgläschen an den Ecken am besten mit breit endenden Pincetten, hebt mit dem einen Gläschen die Kuppe des Tropfens ab, läfst dasselbe auf das zweite fallen, worauf sich der Tropfen, falls die Gläser spiegelblank waren, schnell in kapillarer Schicht verteilt, und zieht danach ohne Druck oder Quetschung genau horizontal mit einer schnellen Bewegung beide Gläschen voneinander.

Weniger empfehlenswert erscheint mir die Methode, den Blutstropfen an einer Kante des Deckgläschens aufzufangen und mit letzterem schnell über ein zweites Gläschen hinzufahren.

Zur weiteren Behandlung müssen die Präparate an der Luft trocknen, was bei richtiger, d. h. in feinster Schicht erfolgter Ausbreitung des Blutes in wenig Minuten vollendet ist.

3. Die Fixation des lufttrockenen Präparates kann nach der älteren Ehrlichschen Vorschrift auf einer erwärmten Kupferplatte geschehen.

Sicherer geschieht sie im Wärmeschrank, und es eignen sich hierzu die Blechkästen für trockene Sterilisation, wie sie in jedem Laboratorium vorhanden sind, sehr gut. Man stellt die Temperatur auf 110—120° C. ein und läfst die Präparate $^1/_2$—2 Stunden in dem Wärmekasten.

Besondere Kästen zur Hitzefixierung sind nach Ehrlich's Angaben konstruiert.

Schneller und für die meisten Farbmischungen völlig ausreichend geschieht die Fixation in absolutem Alkohol, in dem sie ca. fünf Minuten bleiben müssen. Auch Äther sowie Alkohol und Äther zu gleichen Teilen können benutzt werden.

Andere Fixationsmittel, wie Pikrinsäure und Sublimatlösungen bedingen leicht störende Farbstoffniederschläge beim Färben, auch wenn sie gut abgewaschen sind.

Gulland empfiehlt, die Fixation und Färbung in einem Akte mittels folgender Mischung vorzunehmen:

Absolut. Alkohol gesättigt mit Eosin	25 ccm.
Reiner Äther	25 „
Sublimat in abs. Alkohol (1:5)	5 Tropfen.

Die Deckgläschen bleiben hierin 3—5 Minuten und werden mit Methylenblau nachgefärbt.

4. Die Färbung der Blutpräparate geschieht fast ausschliefslich nach vorhergegangener Fixation.

Man kann für gewisse Zwecke auch das einfach an der Luft getrocknete Präparat mit solchen färbenden Stoffen behandeln, welche das Hämoglobin nicht lösen, z. B. mit Jod-Jodkaliumlösung, wodurch das Hämoglobin bräunlich, die Kerne hellgelb, das Protoplasma

der Leukocyten gar nicht gefärbt werden und z. B. kernhaltige rote Blutkörperchen leicht erkannt werden.

Frisches, d. h. nicht getrocknetes Blut nimmt ebenso wie das im Körper cirkulierende Blut keinen Farbstoff an.

Zur Färbung des Blutes dienen:

a) Lösungen saurer Farbstoffe.

b) Lösungen basischer Farbstoffe.

c) Farbmischungen saurer und basischer Stoffe, welche nach den von Ehrlich entwickelten Prinzipien in verschiedener Kombination für die verschiedenen Zwecke der Färbung angewandt werden.

a) Saure Farbstoffe färben im Blute die roten Blutkörperchen und die Granulationen der eosinophilen (oxyphilen) Leukocyten. Von diesen Farbstoffen kommen vorzugsweise in Betracht:

Eosin, in Lösung von 0,75 : 100 ccm 75% Alkohol oder in wässeriger Lösung mit Glycerinzusatz.

Säurefuchsin.
Orange-G.
Indulin.
Nigrosin.

b) Basische Farbstoffe färben vorzugsweise die Kernsubstanzen sowohl der roten wie der weifsen Zellen. (Das Nukleïn der Zellkerne verhält sich nach Lilienfeld-Posner wie eine Säure und zieht daher die basischen Stoffe an.) Ferner färbt sich das Zellprotoplasma gewisser einkerniger Leukocyten in dieser Weise — basophile Zellen. Die wichtigsten Farbstoffe sind

Methylgrün.	Fuchsin.
Methylenblau.	Methylviolett.
Amethystviolett.	Bismarckbraun.

Alle diese Farbstoffe können in wässeriger oder alkoholischer Lösung zur Anwendung kommen.

Isolierte Färbungen mit basischen Farbstoffen, speziell mit Methylenblau haben neuerdings für die Untersuchungen auf Malariaparasiten und auf degenerative Veränderungen der roten Zellen, ferner bei Diabetes eine grofse Bedeutung erlangt.

Neben konzentrierten wässerigen Methylenblau-Lösungen kommen besonders solche zur Anwendung, bei welchen die Farbwirkung durch Zusatz eines Alkali erhöht ist und zwar am meisten als sog. Löfflersches Methylenblau, das in folgender Weise bereitet wird: von einer konzentrierten alkoholischen Methylenblaulösung werden 30 gr zu 100 ccm einer 0,01 % Kalilauge zugesetzt.

Ferner kann durch Zusatz von 2—5 gr Borax auf 100 ccm wässriger Methylenblaulösung eine sehr gut färbende Lösung hergestellt werden — Borax-Methylenblaulösung.

Diese alkoholischen Methylenblaulösungen dürfen nicht länger als $^1/_2$—1 Minute einwirken und müssen gut abgespült werden, bis das Präparat makroskopisch schwach grünlich gefärbt erscheint. Mikroskopisch zeigen dann die roten Blutkörper eine grünliche, die Kerne der roten, wie der weifsen Zellen, ebenso die Malariaparasiten blaue Färbung und auch die degenerativen Körnchen in den roten Zellen erscheinen blau.

(Vgl. die Färbung auf Taf. I. No. 1 und No. 5).

Kombinierte Färbungen.

Am wichtigsten sind die verschiedenen Farbmischungen für die histologischen Studien am Blute.[1])

In sehr einfacher Weise und verhältnismäfsig schnell läfst sich eine kombinierte Färbung mit Eosin und Methylenblau derartig erzielen, dafs man auf das in Alkohol fixierte Präparat, welches man mit einer Klemmpincette faſst, zuerst für ca. fünf Minuten die 0,75 % Eosinlösung einwirken läfst, abspült und darauf für eine ganz kurze Frist mit Löfflerscher Methylenblaulösung nachfärbt, so dafs das Präparat makroskopisch violett gefärbt erscheint.

Für schnelle Orientierung erhält man durch diese, in wenig Minuten auszuführende Färbung genügend gute Bilder, in vielen Fällen sind sogar die neutrophilen Granula gut gefärbt.

Die Färbung mit Eosin und Methylenblau nach einander hat den grofsen Vorteil, dafs keine Farbstoffniederschläge entstehen, die beim Zusammengiefsen dieser sauren und basischen Stoffe leicht entstehen. Diesen letzteren Mifsstand zeigten besonders die früher von Plehn, Chenzinsky u. a. angegebenen Eosin-Methylenblau-Gemische.

Neuerdings hat man diese Niederschläge zu verhindern und die Farbstoffe in Lösung zu halten versucht durch gewisse Zusätze, z. B. von Aceton (Michaelis) und besonders von Essigsäure (v. Willebrand, Becker u. a.).

v. Willebrand giebt folgende Methode an: Es wird eine Lösung bereitet von: 0,5 Eosin in 70 % Spiritus dilut. und konzentrierter wässriger Methylenblaulösung: aā. Dieser blauen Lösung setzt man von 1 % Essigsäure ca. 10—15 Tropfen auf 50 ccm zu, so dafs ein rötlicher Farbton eintritt. Diese Lösung mufs vor der Anwendung stets filtriert werden. Die roten Zellen werden hierbei rot, die Kerne dunkelblau, die neutrophilen Granula violett gefärbt.

---

[1]) Über den Chemismus dieser Farbstoff-Mischungen s. das betr. Kapitel in Ehrlich und Lazarus. Die Anämie. Wien, 1898. Ferner: Pappenheim. Grundrifs der Farbchemie zum Gebrauch bei mikrosk. Arbeiten. 1900.

Romanowski-Ziemannsche Färbung. Die schönsten Färbungen liefern Eosin und Methylenblau in bestimmten Mischungsverhältnissen nach einer Methode, welche in unvollkommener Weise von Romanowsky angegeben und besonders von Ziemann vervollkommnet worden ist. Mit dieser Methode färben sich nicht nur die eosinophilen und neutrophilen Granulationen sehr distinkt, es kommt ferner die basische Componente sehr viel stärker zur Geltung, als z. B. bei den Triacid-Färbungen, so dafs z. B. die Leiber der Lymphocyten, Malaria-Parasiten und körnige Degenerationen der roten Zellen sehr deutlich hervortreten. Aufserdem bildet sich aber bei dieser Methode ein eigenartiger färbender Körper, den Nocht als ein Oxydationsprodukt des Methylenblau erkannt und L. Michaelis als „Methylenazur" identifiziert hat, so dafs Michaelis diese Reaktion kurz als „Azurreaktion" bezeichnet. Dieser Körper färbt das Chromatin der Zellkerne, ebenso aber auch, wie Ziemann zeigte, Chromatin ähnliche Substanzen in den Malariaparasiten, so dafs diese Färbung eine hohe Bedeutung gewonnen hat. Dieser Chromatinfarbton ist ein leuchtendes Rotviolett. In ähnlichem Ton färben sich die meisten Bizzozero'schen Blutplättchen.

Die ursprüngliche Methode von Ziemann war folgende:

eine 1% Lösung von Methylenblau med. pur, (Höchst) und
eine 0,1% Lösung von Eosin (Marke BA oder AG, Höchst)

werden im Verhältnis von 1:5 oder 1:6 sorgfältig gemischt, das Deckgläschen in einem Glasblock mit konkavem Boden mit der Präparatenseite nach unten gelegt, mit der Mischung übergossen und ca. 20 Minuten gefärbt. Vor der Herausnahme wird ein etwa gebildetes Häutchen von der Oberfläche der Mischung mit Fliefspapier entfernt, da sonst Farbniederschläge entstehen.

Die neuere Methode ist folgendermafsen modifiziert:

eine Lösung von 1% Methylenblau mit 2,5 gr Borax
und eine Lösung von 0,1% Eosin

werden im Verhältnis von 1:4 gemischt, auf die im Blockschälchen liegenden Gläschen gegossen. Nach fünf Minuten wird unter Wasserauffluſs das irisierende Häutchen abgespült und das intensiv blau-violette Präparat in eine sehr dünne Essigsäurelösung kurz eingetaucht, so dafs es rötlich erscheint, dann wieder gespült, getrocknet und in Canada eingelegt.

Diese neueste Methode von Ziemann giebt die schönste und universellste Färbung, ist mit grofser Leichtigkeit auszuführen, so dafs ich sie aufs wärmste empfehlen kann.

(Vgl. die Färbungen auf Taf. I. No. 2, Taf. II. No. 5, Taf. IV. No. 2.)

Mischungen von Eosin und Hämatoxylin geben besonders ausgezeichnete Kernfärbungen, während die neutrophilen Zellgranulationen nicht spezifisch gefärbt werden; besonders empfehlenswert ist die Ehrlich'sche Lösung:

Eosin (kryst.)	0,5
Hämatoxylin	2,0
Alkohol absol.	
Aqu. destill.	
Glycerin āā	100,0
Acid. acet. glacial.	10.0
Alaun im Uberschufs.	

Färbung während $^1/_2$—2 Stunden.

(Vgl. die Färbung auf Taf I. No. 3 u. 6.)

Zur Darstellung von Präparaten, in welchen die verschiedenen Zellbestandteile in vortrefflicher Weise distinkt gefärbt erscheinen, eignen sich besonders die Ehrlich'schen **Triacidmischungen,** zu deren Darstellung Ehrlich folgende Mischung angiebt:

13—14	ccm	Orange G-Lösung,
6—7	„	Säure-Fuchsinlösung,
15	„	Aqu. destill.,
15	„	Alkohol,
12,5	„	Methylgrün,
10	„	Alkohol,
10	„	Glycerin.

Die drei Farbstoffe werden in gesättigter wässeriger Lösung angewandt und durch längeres Stehenlassen geklärt. In der vorgeschriebenen Reihenfolge werden die Stoffe in einem und demselben Mefsglase abgemessen und gründlich durchgeschüttelt.

Die Mischung hält sich gut und färbt schon in 5—15 Minuten.

(Vgl. die Färbung auf Taf. II. No. 1, 2.)

Wer die immerhin diffizile Bereitung dieser u. a. Lösungen scheut, kann dieselben fertig von der Grüblerschen Fabrik in Leipzig beziehen.

In neuester Zeit hat Pappenheim ein Triacid mit polychromem Methylenblau als Base hergestellt, das wegen seiner universellen Farbwirkung vom Autor sehr gerühmt wird. Auch dieses Gemisch ist bei Grübler erhältlich.

Zur Färbung der Blutplättchen empfiehlt Rabl (Wiener med. Wochenschrift 1896, S. 46) folgendes Verfahren:

Das lufttrockene Präparat wird in physiol. Kochsalzlösung, die mit Sublimat gesättigt ist, $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde fixiert, in destilliertem Wasser gewaschen und für $^1/_2$ Stunde in eine Beize gebracht, die aus einer 1,5% Eisenalaunlösung oder aus Liquor ferri

sulf. oxydat. mit gleichen Teilen Wasser oder aus Liquor ferri sesquichlor, mit der Hälfte Wasser verdünnt besteht. Dann wird das Präparat für $^1/_2$—1 Stunde in frische gesättigte Hämatoxylin-Lösung und nochmals in stark verdünnte Beize gebracht.

Die roten Blutkörperchen sind dann entfärbt, die weifsen und die Blutplättchen dunkelschwarzblau.

5. Für feinere histologische Untersuchungen, besonders für das Studium der Kernteilungen, kann man das Blut in möglichst frischem Zustande fixieren, indem man das Deckglas-Abzugspräparat in Flemmingsches Chromosmiumsäuregemisch oder in konzentrierte Sublimatlösung einlegt.

Zweckmäfsiger ist die Biondi'sche Schnittmethode:

Einige Blutstropfen werden frisch hervorquellend in 5 ccm einer 2% Osmiumsäurelösung aufgefangen und durch Umschütteln verteilt. Nach 24 Stunden werden einige Tropfen des Blutosmiumgemisches mit der Pipette auf eine Agarlösung übertragen, welche bei 35—37° C. verflüssigt wird. Hierin wird das Blutosmiumgemisch verteilt, das Ganze in Kästchen ausgegossen, mehrmals in 85% Alkohol gehärtet, geschnitten und gefärbt.

Weniger umständlich ist die Schnittmethode nach P. Grawitz: Ein oder mehrere grofse Tropfen Blut läfst man direkt aus dem Ohrzipfel in ein untergehaltenes Gläschen mit Flemmingscher Lösung fallen, worin sich die Tropfen sogleich fest zusammenballen. Nach 24 Stunden werden die Coagula mehrere Stunden lang in fliefsendem Wasser gewaschen, dann in Alkohol gehärtet, darauf in Paraffin eingebettet, geschnitten und in der gewöhnlichen Weise gefärbt, ausgewaschen, in Alkohol und darauf in Xylol übertragen und schliefslich in Kanadabalsam eingedeckt.

Besonders leukämisches Blut hat mit dieser Methode sehr schöne Resultate gegeben. Als kernfärbendes Mittel ist Saffranin in wässeriger Lösung empfehlenswert. Der Chromatingehalt der Kerne, Mitosen etc. sind an feinen derartigen Schnitten vortrefflich zu studieren.

C. Die Untersuchungen auf Mikroorganismen.

1. Der Nachweis von Bakterien kann nur in seltenen Fällen, z. B. wenn es sich um Milzbrandbazillen-Infektion oder um Recurrens-Spirillen handelt, in frischen Blutpräparaten geführt werden.

Auch fixierte Trockenpräparate, welche mit bakterienfärbenden Farbstoffen, wie Methylenblau, Fuchsin etc. behandelt sind, geben selten eindeutige Befunde. Bakterien können hierbei leicht durch kleine Zerfallskörperchen im Blute vorgetäuscht werden, welche, wenn sie aus Kernsubstanz bestehen, ebenso wie die Bakterien Affinität

zu basischen Farbstoffen haben. Am ehesten kann es gelingen, gewisse charakteristische Bakterienformen, wie den Diplococcus Pneumoniae durch einfache Färbung nachzuweisen, einzelne Kokken dagegen und auch kleine Stäbchen sind schon oft fälschlich aus den erwähnten Partikelchen diagnostiziert worden und haben zu zahlreichen Irrtümern Veranlassung gegeben.

Es mufs deshalb für exakte Untersuchungen die Übertragung von nicht zu kleinen Blutquantitäten auf tote oder lebende Nährmedien gefordert werden.

Zu diesem Zwecke eignen sich ganz besonders Venenpunktionen, bei denen man das Blut direkt auf die unter die Kanüle gehaltenen Gläschen oder Schalen mit Agar, Bouillon etc. tropfen läfst, so dafs eine Verunreinigung durch Keime der Luft, der Haut oder der Instrumente nahezu ausgeschlossen ist.

Zur subkutanen oder intraperitonealen Injektion der Tiere setzt man an die eingestochene Kanüle eine sterile Injektionsspritze und injiciert deren Inhalt unmittelbar nach dem Ansaugen des Blutes in die Spritze.

Legt man Gewicht auf Gewinnung des Blutes aus dem Kapillargebiet, so kann man unter allen Kautelen der Sterilisation den Schröpfapparat anwenden. Ich verwende hierfür anstatt des Schröpfschneppers eine leicht zu sterilisierende Lanzette, mit der ich die Haut in einem kleinen Umkreis stichele, so dafs kleine Blutströpfchen hervortreten, worauf in der bekannten Weise ein steriles Gläschen als Sauger aufgesetzt wird.

Immer wird man berücksichtigen müssen, dafs die Haut nach aller Erfahrung äufserst schwierig sicher steril zu machen ist.

Leichenblut kann für den Nachweis des Vorhandenseins von Bakterien im cirkulierenden Blute nicht herangezogen werden, da in der Agonie Bakterien z. B. aus dem Darminhalte (Bact. coli cummune) in das Blut übertreten können, die mit der Krankheit des betroffenen Individuums gar nichts zu thun haben.

Die Widal'sche Reaktion.

Das Serum des Blutes Typhuskranker besitzt die eigentümliche Eigenschaft, Typhusbazillen in ihrer Beweglichkeit zu hemmen und gruppenweise zusammentreten zu lassen — zu agglutinieren (Gruber).

Diese Erscheinung ist von Widal für klinische Zwecke nutzbar gemacht worden, und das Verfahren ist dabei folgendes:

Man entnimmt dem zu untersuchenden Patienten durch Venenpunktion oder Schröpfen oder auch nur durch Stich in das Ohrläppchen oder die Fingerkuppe eine kleine Quantität Blut, aus dem man das

Serum durch Gerinnenlassen oder Zentrifugieren gewinnt. Von diesem Serum nimmt man mittels Pipette 0,02 ccm ab, läfst dieselben in ein Reagensglas, das 1 ccm Nährbouillon enthält, fliefsen und vermischt beides gehörig durch mehrmaliges Umgiefsen. Dieses Serum, das also im Verhältnis von 0,02:1, d. i. 1:50, mit Bouillon verdünnt ist, wird mit einer Platinöse einer 24 Stunden alten Agarkultur von Typhusbazillen beschickt und zwar so, dafs eine gleichmäfsige Trübung der Flüssigkeit entsteht.

Ist die Reaktion positiv, so sieht man bald schon makroskopisch eine feine Häufchenbildung in der zuerst völlig homogen getrübten Bouillon auftreten; entnimmt man derselben eine Platinöse voll und untersucht sie als hängenden Tropfen, so findet man deutliche Immobilisierung und Agglutination der Typhusbazillen. Tritt dieselbe nicht ein, auch wenn man das Reagensglas eine halbe Stunde lang in den Brutschrank gestellt hat, so ist die Reaktion als negativ anzusehen.

Nimmt man das Verhältnis von Serum zu Bouillon wie 1:30, so sieht man die Reaktion auch bei dem Blutserum Gesunder eintreten.

2. Für den Nachweis von Malariaparasiten kommt in erster Linie die Untersuchung des frischen, sorgfältig (s. o.) präparierten Blutstropfens in Betracht. Besonders beachtenswert sind die endoglobulären pigmentierten Parasiten, welche auch bei geringer Übung schwer mit Kunstprodukten verwechselt werden können. Schwieriger sind die kleinen unpigmentierten Formen zu erkennen, besonders mufs man sich hüten, Kontraktilitätserscheinungen an den roten Blutkörperchen (sog. Vakuolenbildungen) für Parasiten zu halten.

Sehr zweckmäfsig und für biologische Studien der Parasiten unentbehrlich ist die Beobachtung in der erwärmten Kammer, wo die Bewegung des ganzen Parasiten und die endocellulären Pigmentbewegungen fortgesetzt zu verfolgen sind. Es sei jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen, dafs diese Bewegungen wenigstens einige Zeitlang auch am gewöhnlichen, nicht erwärmten Präparate zu beobachten sind.

Erfahrungsgemäfs erfordert das Auffinden von Malariaamöben, besonders bei den milden Fiebern unserer Gegenden, und wenn die Erkrankung noch frischen Datums ist, viel Geduld und Zeit.

Zur Fixation der Trockenpräparate genügt absol. Alkohol während fünf Minuten.

Die Färbung der Malariaparasiten wird fast ausschliefslich durch Methylenblau bewirkt.

Man färbt entweder mit Methylenblau in wässeriger Lösung oder besser mit Löffler'schem Methylenblau resp. mit Borax-Methylen-

blau (s. S. 13) isoliert, wobei die roten Blutkörperchen grün und die Parasiten blau erscheinen.

Schöner wird der Kontrast, wenn man zweiseitig mit Eosin und Methylenblau oder mit einer Mischung dieser Farbstoffe (s. o.) färbt.

Am meisten Beachtung verdient jedoch die Ziemannsche Färbung, mittels deren in den sich entwickelnden Parasiten Chromatinsubstanzen mit einem Karminfarbenton gefärbt werden, während der Parasit im übrigen blau, die roten Blutkörperchen rot erscheinen

(Vgl. die Abbildungen auf der Malaria-Tafel No. V.)

III. Kapitel.

Die physikalisch-chemischen Untersuchungsmethoden.

I. Die Blutkörperchenzählungen.

Zur Zählung der Zellen des Blutes kommen heute vorzugsweise die nach den Prinzipien von Thoma-Zeiss konstruierten Apparate in Frage.

Zunächst mufs das Blut mit einer für die Zellen indifferenten Flüssigkeit verdünnt werden. Hierzu dient die sog. physiologische Kochsalzlösung, d. h. 0,9 NaCl : 100 Aqu. dest. oder die Pacini'sche Flüssigkeit:

Hydrarg. bichlor.	2,0
Natr. chlorat.	4,0
Glycerin	26,0
Aqu. destill.	226,0

oder die Hayem'sche Flüssigkeit:

Hydrarg. bichlor.	0,5
Natr. sulfuric.	5,0
Natr. chlorat.	1,0
Aqu. destill.	200,0

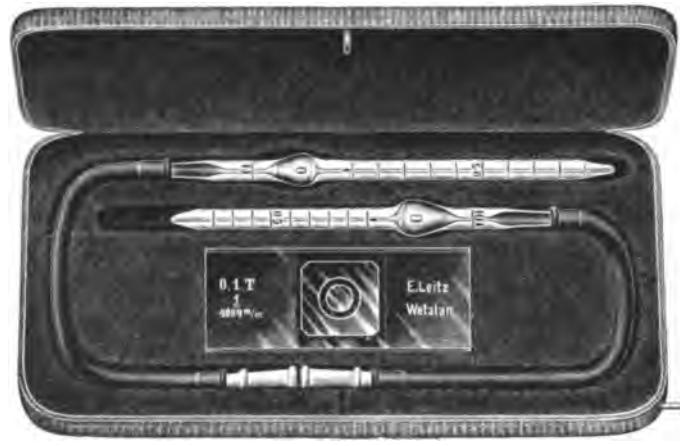
Die Toisson'sche Flüssigkeit:

Aqu. dest.	160 ccm
Neutral. Glycerin	30 „
Natriumsulphat.	8 g
Natr. chlorat.	1 g
Methylviolett	0,025 g

Diese dient gleichzeitig zur Verteilung der roten und zur leichteren Erkennung der weifsen Blutkörperchen, die violett gefärbt erscheinen, doch kann man dasselbe in einfacherer Weise erreichen, wenn man zur

physiologischen Kochsalzlösung (s. o.) etwas wässerige Methylviolettlösung hinzusetzt und vor dem Gebrauch filtriert.

a) Zur Zählung der roten Zellen läfst man nach Einstich in die Haut einen grofsen Tropfen Blut heraustreten und saugt in die Mischpipette bis zur Marke 0,5 oder 1 Blut auf, entfernt mit dem Finger (nicht mit Fliefspapier) etwaiges Blut von dem Ende der Mischpipette und saugt darauf von der Mischungsflüssigkeit bis zur Marke 101. Wichtig ist, dafs die Blutsäule in dem kapillaren Ende der Mischpipette kontinuierlich angesaugt wird und keine Luftbläschen enthält, letztere dürfen auch beim Ansaugen mit der Mischungsflüssigkeit nicht auftreten. Durch leichtes Schütteln während dieses letztgenannten



Zählapparat für rote und weifse Blutkörperchen.

Aktes mufs das Blut durch Bewegung des Glasbügelchens in der Ampulle gut verteilt werden.

Nach richtiger Füllung und Mischung des Blutes in diesem Apparate wird zunächst eine kleine Menge Flüssigkeit ausgeblasen und sodann ein Tropfen von mittlerer Gröfse auf die innere Zählplatte gebracht, welche in einem genau berechneten Abstande unter dem Niveau des breiten äufseren Rahmens liegt. Über den letzteren wird nunmehr das dicke Deckgläschen gelegt, welches bei richtiger Ausführung so fest auf dem Glasrahmen liegen mufs, dafs die Newtonschen Farbringe erscheinen.

Die Zählkammer wird darauf mit ihrer Mitte unter dem Mikroskop eingestellt (Zeiss, Objektiv DD, Leitz, Nr. 6), so dafs das Fadenkreuz und die auf demselben liegenden Blutzellen deutlich zu erkennen sind. Jedes der grofsen Quadrate bildet den 4000. Teil eines Kubikmillimeters, man zählt am besten Gruppen von 16 Quadraten hintereinander durch,

notiert die gefundene Zahl und nimmt den Durchschnitt von mehreren solchen Zählungen.

Hat man das Blut bis zur Marke 1 aufgesogen, also auf 1:100 verdünnt, so ist die Berechnung:

$$\frac{x.100.4000}{16},$$

hat man bis 0,5 aufgesogen, so mufs mit 200 multipliziert werden.

Eine gewisse Übung und grofse Exaktheit in der Ausführung aller Einzelheiten sind unbedingtes Erfordernis zur Erlangung richtiger Zahlenwerte.

Die normale Zahl der r. Bl. im Kubikmillimeter beträgt:

5 Millionen beim Mann,
4,5 „ „ Weibe.

b) Zur Zählung der Leukocyten kann dieselbe Mischpipette und Zählkammer wie für die roten Blutkörperchen benutzt werden. Als Mischungsflüssigkeit dient die Toissonsche Mischung oder 0,9 % NaCl-Lösung mit Methylviolett (s. o.). Man kann hiermit hintereinander mit derselben Kammerfüllung die roten und weifsen Zellen zählen. Wegen der Spärlichkeit der letzteren empfiehlt es sich, gröfsere Reihen von Quadraten zu durchzählen oder bei bestimmter Okulareinstellung und bestimmtem Objektiv den Inhalt des Gesichtsfeldes an Quadraten zu berechnen und die Leukocyten gesichtsfeldweise zu zählen, worauf bei der Berechnung des Resultates der Inhalt des Gesichtsfeldkreises als Divisor zu nehmen ist.

Zweckmäfsiger ist es, besondere Mischpipetten für die Leukocytenzählung zu gebrauchen, bei welchen das Blut weniger stark verdünnt wird und daher in der Raumeinheit gröfsere Mengen von Leukocyten gezählt werden können (s. Abbildung). Man benutzt hierzu Pipetten, welche auf eine Verdünnung von 1:10 oder 1:20 abgemessen sind, und benutzt als Mischungsflüssigkeit eine 0,3 % Essigsäurelösung, in welcher die roten Blutkörperchen aufgelöst werden, so dafs die weifsen leicht erkennbar und zählbar werden.

Die normale Zahl der Leukocyten im Kubikmillimeter beträgt 5000—10 000.

Von Zappert und Elzholz sind Zählkammern mit neunmal gröfserer Gradeinteilung als beim Zeissschen Apparate angegeben, um eine exakte Durchzählung gröfserer Mengen von Leukocyten zu ermöglichen.

Die Zählung der einzelnen Leukocytenarten und die Berechnung ihrer Verhältniszahlen geschieht am ausgestrichenen und gefärbten Präparate unter Be-

nutzung eines verschiebbaren Objekttisches, der durch Gradeinteilung eine genaue Berechnung des untersuchten Quadrates ermöglicht. Derartige Apparate werden von den Firmen Zeiss und Leitz geliefert.

Zur isolierten Zählung der eosinophilen Zellen empfiehlt Zappert, zu einer Menge von 5 ccm frischer 1% Osmiumsäurelösung 4—5 Tropfen einer Mischung von:

Aqu. dest.
Glycerin āā: 10,0
1% wässeriger Eosinlösung 5,0

hinzuzusetzen, durchzuschütteln und als Mischungsflüssigkeit für den Zählapparat zu benutzen. Die schnelle Härtung und Färbung der Leukocyten läfst dann die eosinophilen Zellen mit roter Granulation deutlich in der Zählkammer hervortreten.

2. Die Bestimmung des spez. Gewichtes des Blutes.

Die Ermittelung des spez. Gewichtes des Blutes bildet seit langem die sicherste und leichtest auszuführende Methode der Bestimmung der Konzentration des Blutes.

An grofsen Quantitäten defibrinierten Blutes (Aderlass) wird die Dichte einfach durch Einsenken eines Aräometers bestimmt, oder durch Abwägen eines bestimmten Volumen Blut in einem Glase bei bestimmter Temperatur, nachdem zuvor das Gewicht desselben Volumen destillierten Wassers bei derselben Temperatur bestimmt ist (ältere Methode von Becquerel und Rodier u. a.).

An kleinen Quantitäten Blut:

a) Die Methode von Schmaltz mittels Kapillarpyknometer: Ein Glasröhrchen (nach Art der Lymphröhrchen) mit offenen, sorgfältig abgeglätteten Enden wird leer, dann mit destilliertem Wasser bei 15° C. gewogen und das Wassergewicht notiert. Nachdem das Röhrchen getrocknet ist, wird es mit Blut (aus Hautschnitt oder Punktionskanüle, s. o.) gefüllt, sauber abgewischt und gewogen. Das absolute Blutgewicht durch das Wassergewicht dividiert, giebt das spez. Gewicht.

Die Röhrchen dürfen nicht unter 0,2 g Blut fassen, die Abwägung mufs auf einer guten chemischen Wage geschehen, die auf $^1/_{10}$ Milligramm genau wiegt.

Bei einiger Übung leistet die Methode Vorzügliches, speziell empfiehlt sie sich für Experimente im Laboratorium.

b) Die Methode von Hammerschlag: Durch Mischung von Chloroform (spez. Gew. 1,485) und Benzol (spez. Gew. 0,88) wird in einem cylindrischen Standgefäfs eine Flüssigkeit vom spez. Gewichte von ca. 1,050 hergestellt und durch Eintauchen eines Normalaräometers gemessen. Darauf läfst man aus einem Hautschnitt Blut in die an beiden Enden offene Glasröhre (s. S. 10) eintreten, läfst aus dieser einen Tropfen Blut in das Chloroform-Benzolgemisch fallen und be-

obachtet, ob er steigt, d. h. spezifisch leichter ist, oder ob er fällt, d. h. schwerer ist. Im ersteren Falle gießt man etwas Benzol, im letzteren Falle Chloroform hinzu, läßt die Flüssigkeiten durch vorsichtiges Neigen des Gefäßes sich innig vermischen und bestimmt, wenn der Blutstropfen mitten in der Flüssigkeit ohne zu steigen oder zu sinken verharrt, durch Einsenken des Aräometers das spez. Gewicht. Bequemer ist es, wenn man mehrere Standgefäße mit verschieden schweren Mischungen nacheinander mit Blutstropfen beschickt.

Diese Methode ist für klinische Zwecke ausreichend exakt, falls die Ausführung schnell geschieht, so daß der Blutstropfen kein Wasser abgiebt (Zuntz). Sie eignet sich wegen ihrer Einfachheit und weil sie keine größere Übung verlangt, für Untersuchungen am Krankenbette, in der Sprechstunde, auf Reisen etc.

c) Weniger zweckmäßig sind die Methoden, bei welchen der Blutstropfen in andere Flüssigkeitsmischungen, z. B. Wasser und Glycerin (Roy) oder Gummi-Arabicumlösung von verschiedener Konzentration (Fano) gebracht und im übrigen wie bei b) verfahren wird.

Das normale spez. Gewicht des Blutes ist:

bei Männern 1055—1060,
„ Frauen 1050—1056.

3. Die Bestimmung des Trockenrückstandes.

Seit den ersten modernen Blutuntersuchungen als zweifellos exakte Methode zur Ermittelung des Wassergehaltes, d. h. der Konzentration des Blutes in Gebrauch.

Für diese Bestimmungen benutzt man kleine gläserne Wiegeschälchen mit hermetisch schließendem Deckel, deren Gewicht vorher auf einer chemischen Wage exakt bestimmt wird.

Alsdann fängt man für diese Bestimmungen ein nicht zu kleines Quantum Blut, am besten ca. 1—2 ccm aus der punktierten Vene in dem Wiegeschälchen auf und bestimmt nach sorgfältigem Abwischen der Außenwände des Gläschens das Gewicht des feuchten Blutes auf der Wage, indem man das gefüllte Schälchen abwiegt und das Leergewicht subtrahiert.

Nunmehr wird nach Abhebung des Deckels das Blut im Vacuum über Schwefelsäure oder Chlorcalcium getrocknet, bis die getrocknete Masse glashart vom Boden des Gefäßes abspringt, was bei 1—2 ccm Blut etwa 2—3 Tage zu dauern pflegt. Das trockene Blut wird gewogen und seine prozentische Menge berechnet.

Man kann das Blut auch bei 67° C. im Brutschrank trocknen (Stintzing), doch ist diese Methode nicht völlig exakt.

Die Trockenrückstände betragen beim Gesunden 21—22%.

4. Stickstoffbestimmungen.

Zur Ermittelung der Konzentration des Blutes kann endlich noch die quantitative Analyse der Eiweifskörper herangezogen werden, indem man den im Blute enthaltenen Stickstoff ermittelt und durch Multiplikation mit 6,25 nach Analogie anderer Eiweifsbestimmungen den Eiweifsgehalt berechnet.

Hierbei ist zu berücksichtigen (v. Jaksch), dafs geringe Mengen von N im Blute nicht auf Eiweifskörper, sondern auf Extraktivstoffe zu beziehen sind. Die Analysen sind daher immer nur mit Vorsicht zu verwerten, da bei manchen pathologischen Zuständen, z. B. Nierenkrankheiten der Extraktiv-N in unkontrollierbarer Weise gesteigert sein kann.

Die Bestimmung selbst geschieht derart, dafs man eine kleine Quantität Blut im Wiegegläschen abwiegt und sorgfältig mit destilliertem Wasser in einen Kolben spült, worauf der Nachweis des N in der von Kjeldahl angegebenen Weise erfolgt. Als noch zweckmäfsiger habe ich es gefunden, kleine Düten von Staniol mit etwas getrocknetem Sande abzuwiegen, dann in den Sand einige Tropfen Blut fallen zu lassen, worauf die Stanioldüte geschlossen und sofort das Gewicht des Blutes bestimmt wird. Die Düte wird dann in gewöhnlicher Weise im Kjeldahl-Kolben verbrannt. (Vgl. die Lehrbücher der physiologischen Chemie von Hoppe-Seyler, Thierfelder, Salkowski, Kossel u. a.)

Der N-Gehalt beim Gesunden beträgt: 3,5—3,7%.

5. Hämoglobinometrie.

Die Hämoglobinmesser älterer Konstruktion beruhen auf Vergleichung der Färbekraft des in bestimmter Proportion verdünnten Blutes mit empirisch hergestellten Normalfarben, die einem bestimmten Hb-Gehalt entsprechen. Die Fehler dieser Apparate sind erheblich und im Einzelfalle schwer kontrollierbar. Bessere Resultate geben die Methoden, bei welchen das Hb vor der Untersuchung in eine CO-Verbindung übergeführt und mit geaichten CO-Hb-Lösungen verglichen wird.

Der Hb-Gehalt beim Gesunden beträgt: 13—14%.

a) Die Hämoglobin-Skala von Tallquist. Das einfachste Prinzip, die Färbekraft des Blutes zu messen, ist von Talquist in folgender Weise für die Praxis ausgeführt. In einem Buche, welches mit Filtrier-Papier-Blättchen ausgestattet ist, findet sich eine empirisch bestimmte farbige Skala, welche die Nüancen des Blutrotes in verschiedenen Abstufungen zeigt, in der Stärke von 10—100% Hb steigend.

Es wird nun mit einem Filtrierpapierblatt ein Tropfen Blut aufgefangen, der sich spontan in dem Papier verteilt und nach Eintrocknung

in seiner Färbung mit der Skala verglichen wird. Nach meiner Erfahrung ist es zweckmäfsig, den runden Blutfleck nach der Eintrocknung mit einer Schere auszuschneiden und direkt auf die Farbskala zu legen, wodurch die Farbvergleichung noch genauer wird.

b) Bei dem **Hämoglobinometer von Gowers**[1]) wird eine kleine Quantität Blut (2,02 ccm) mit einer Pipette angesaugt, in ein graduiertes cylindrisches Gläschen eingeblasen, mit destilliertem Wasser die Pipette ausgespült und das Blut so weit verdünnt, bis seine Farbe genau derjenigen entspricht, welche die in einem zugeschmolzenen Gläschen enthaltene Karminpikrokarmingelatine (= 1% wässeriger Lösung normalen Blutes) zeigt. An der Skala des Mischgläschens kann man ohne weiteres in Prozenten den Hb-Gehalt des Blutes ablesen.

Hämoglobinometer von Gowers.

Die Farbvergleichung geschieht, indem man die Gläschen gegen einen weifsen Hintergrund betrachtet.

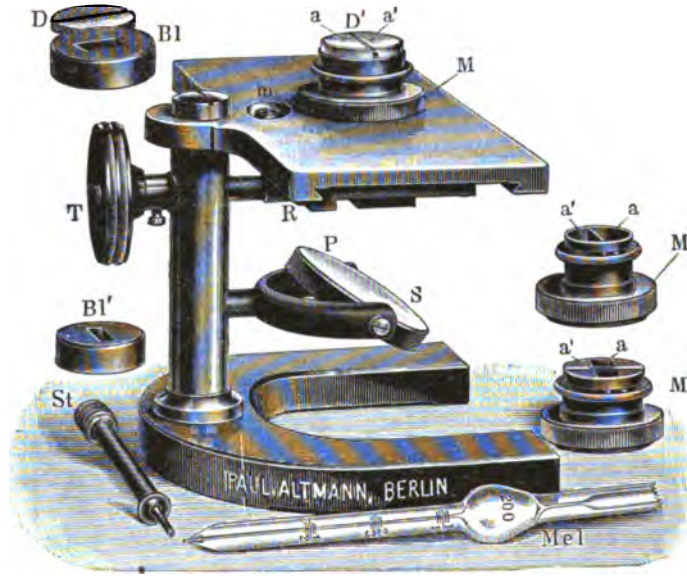
c) Das Fleischl'sche Hämometer, von Miescher verbessert, besteht aus den zur Blutentnahme nötigen Apparaten und einem nach Art des Thoma-Zeifsschen Melangeurs konstruierten Mischgefäfs, in welchem das Blut auf $^1/_{200}$, $^1/_{300}$, $^1/_{400}$ verdünnt werden kann. Als Verdünnungsflüssigkeit dient eine filtrierte 1‰ Na. carbon.-Lösung.

Die zweiteilige Untersuchungskammer des Apparates wird in der einen Hälfte mit reinem Wasser, in der anderen mit der Blutlösung beschickt, so dafs beiderseits ein konvexer Meniscus über der Oberfläche überragt und hiernach das Deckglas in der Richtung der Kammerscheidewand unter Vermeidung von Luftbläschen auf die Oberfläche der Kammer geschoben.

Die Untersuchung an dem Instrumente soll in einem völlig dunklen Raume, bei Tage in einer Dunkelkammer unter Benutzung eines Argand-Gasbrenners oder einer gewöhnlichen Petroleumlampe (nicht mit weifsem Lichte) vorgenommen werden. Die Färbekraft wird an einem mit Gradeinteilung versehenen, verschieblichen Glaskeil gemessen, der eine Rotfärbung von verschiedener Intensität zeigt. Eine zweite kleinere Doppelkammer kann zur Kontrolle der gröfseren ebenfalls be-

[1]) Für die praktische Benutzung dieses und der folgenden Apparate werden von den Fabrikanten genaue Gebrauchsanweisungen beim Bezuge der Apparate mitgeliefert, so dafs hier nur das Prinzip ihrer Funktion erläutert wird.

schickt und untersucht werden, worauf die Werte miteinander verglichen werden.



v. Fleischls Hämometer, von Miescher verbessert.

d) Methode von F. und G. Hoppe-Seyler (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1896, B. XXI, S. 461). Mit einer Kapillarpipette werden 0,04—0,06 ccm Blut aufgesaugt, in einen kleinen, vielgeteilten Meſscylinder geblasen und die Pipette mit Wasser nachgespült. Hierzu wird ein Tropfen schwacher Sodalösung gethan und in das Gemisch Kohlenoxyd oder Leuchtgas eingeleitet.

Ein gleichweiter Cylinder wird mit einer 0,2% CO-Hb-Lösung beschickt und beide Lösungen in einer Doppelpipette auf ihre Farbe verglichen. Zu der entnommenen Blutprobe wird so lange CO-Wasser hinzugesetzt, bis die Farbe der 0,2% Lösung gleich ist. Aus der Menge der zur Verdünnung nötigen Flüssigkeit wird der Hb-Gehalt berechnet. Wenn z. B. 0,06 ccm Blut mit 4,2 ccm Wasser verdünnt waren, so ist der Hb-Gehalt:

$$\text{in 100 ccm} = \frac{0{,}002 \,.\, 4{,}2 \,.\, 100}{0{,}06} = 14.$$

e) Die Methode von Nebelthau (XV. Kongr. f. inn. Med., S. 557) beruht ebenfalls darauf, daſs die Farbvergleichung des Blutes nach Überführung des Hb in CO-Hb mit einer Vergleichsflüssigkeit von CO-Hb (0,01%) geschieht. Zur Ausführung der Vergleichung benutzt Nebelthau das Wolffsche Kolorimeter, welches auf dem Prinzipe beruht,

durch Veränderung der Flüssigkeitssäule in graduierten Cylindern bei durchfallendem Lichte Farbengleichheit herzustellen.

Der Apparat ist in sehr sinnreicher Weise mit Einrichtungen zur Einleitung von CO in die Mischungsflüssigkeiten versehen und die Farbvergleichung geschieht in sehr exakter Weise mit Hilfe eines Fresnelschen Prismenpaares und eines Fernrohres in einem runden Gesichtsfelde, welches durch die aneinanderstoßenden Prismenkanten in zwei Hälften geteilt wird, deren jede von je einem Cylinder ihr Licht erhält.

e) Bei der Methode von Zangemeister (Zeitschr. f. Biol. B. XXXIII. S. 72.) wird das zu untersuchende Blut lackfarben gemacht und in Methämoglobin übergeführt durch Zusatz von einigen Tropfen Äther und konzentrierter Kalinitritlösung zu dem in Wasser gelösten Blute. Die Farbvergleichung geschieht mit einer Normal-Methämoglobinglycerinlösung.

f) Die spektrophotometrische Methode von Vierordt und Hüfner (Vierordt, Die Anwendung des Spektralapparates zur Photometrie der Absorptionsspektren. Tübingen 1873. Hüfner, Zeitschr f. physiol. Chemie, B. I, S. 317). Das Prinzip ist folgendes: Die Eintrittsstelle eines Spektralapparates ist in eine obere und untere Hälfte geteilt, deren jede isoliert durch ein exakt gearbeitetes Schraubengewinde mit Gradeinteilung verengert und erweitert werden kann. Nachdem beide Hälften des Spaltes gleichweit eingestellt sind, wird vor die eine Hälfte in einem planparallelen Trögchen eine auf 1:100 oder 1:200 verdünnte Blutlösung gebracht, während die andere Hälfte frei bleibt. Man schaltet nunmehr mittels eines vertikalen Diaphragmas den größten Teil des Spektrums aus und vergleicht die Absorptionsstreifen des Hämoglobin, indem man durch Drehung der Mikrometerschraube die Hälfte des reinen Spektrum auf denselben Grad von Lichtstärke reduziert, den das Absorptionsband des Hb zeigt.

Aus der abzulesenden Zahl der für die Einstellung nötigen Schraubendrehungen gewinnt man bei richtiger Konstruktion des Apparates ohne weiteres den Prozentgehalt an relativer Lichtstärke. Die negativen Logarithmen dieser Lichtstärkewerte bilden die sog. Extinktionskoeffizienten und die letzteren verhalten sich proportional dem Hb-Gehalt des untersuchten Blutes.

Nach Hüfner lassen sich aus diesen relativen Werten die absoluten Hb-Mengen berechnen, wenn man die von ihm ermittelte Konstante $A = 0{,}1154$ nimmt und die absolute Menge (c) berechnet aus $c = Aa$, wobei A der ermittelte Extinktionskoeffizient ist.

g) Methode von Jolles zur Bestimmung des Hb-Gehaltes aus dem Eisen des Blutes (Pflügers Arch., B. 65, 1897, S. 589). Das

Prinzip ist folgendes: 0,05 ccm Blut werden mit einer Pipette angesaugt, auf den Boden eines Platintiegels geblasen, die Pipette mit Wasser nachgespült. Diese Masse wird zuerst eingedampft und dann verascht. Die Asche wird mit 0,1 g gepulverten, wasserfreien sauren schwefelsauren Kaliums geschmolzen und 1—2 Minuten bei verstärkter Flamme erhitzt. Mit heifsem destillierten Wasser wird der Platintiegel ausgespült und die Masse in ein Glasgefäfs übergespült. Die kolorimetrische Vergleichung dieser Mischung geschieht, nachdem der Lösung 1 ccm Salzsäurelösumg (1 : 3) und 4 ccm Rhodanammoniumlösung

Ferrometer nach Jolles.

(7,5 : 100) zugesetzt sind, mit einer gleichartig behandelten Lösung einer bekannten Fe-Menge in einem zweiten gleichgrofsen Glasgefäfse.

Diese Methode ist für klinische Zwecke vom Autor im Detail ausgearbeitet worden und die hierzu nötigen Apparate etc. werden in kompendiöser Zusammenstellung als **Ferrometer** von Reichert in Wien geliefert.

Der Hb-Gehalt wird aus dem Eisengehalt in Prozenten nach der Formel $\frac{100\ m}{0{,}42}$ berechnet, wobei m die prozentische Eisenmenge bedeutet.

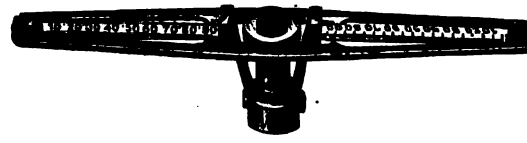
In ähnlicher Weise bestimmt Mackie (Lancet 1898, Jan. 22) den Eisengehalt eines Blutstropfens durch Farbvergleichung, indem er nach Veraschung des Blutes und Lösung in Salzsäure die durch Zusatz von Kalium thiocyanicum entstehende Rotfärbung mit einer gleichbehandelten Normal-Eisenlösung vergleicht.

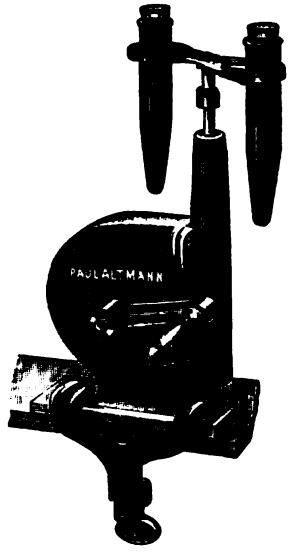
6. Die Untersuchungen des Blutserum.

Die Gewinnung der intercellulären Flüssigkeit des Blutes kann in verschiedener Weise bewirkt werden:

Für klinische Zwecke dürfte **die Gewinnung von Plasma** kaum in Frage kommen, es wird sich vielmehr vorzugsweise darum handeln, das Blutserum, d. h. Plasma minus Fibrin, zu erhalten.

Zur Darstellung von Plasma mufs man das Blut unter Bedingungen auffangen, welche eine Gerinnung desselben verhindern. Dies geschieht nach Landois, indem man das Blut auf 0° C. abkühlt und zu diesem Zwecke direkt aus der Ader in Mefscylinder fliefsen läfst, welche in Kältemischungen stehen.





Blut-Centrifuge mit Hämatokrit (S. 33).

Durch Zusatz von Alkalien, besonders Ammoniak, ferner von konzentrierter Lösung von Natriumsulfat, besonders aber durch geringe Mengen (0,002 : 1 ccm Blut) von Natriumoxalat wird ebenfalls die Gerinnung aufgehoben, die Blutkörperchen senken sich allmählich zu Boden und über diesem Blutkörperchensediment läfst sich das klare Plasma leicht mit Pipetten abheben.

Immer wird man berücksichtigen müssen, ob und wie stark durch Zusatz derartiger Chemikalien die Zusammensetzung des abgeschiedenen Plasma nicht nur in Bezug auf den Gehalt an Salzen, sondern auch an Wasser alteriert wird.

Im Tierexperiment kann man die Gerinnung des Blutes dadurch aufheben, dafs man dem Tiere ca. 0,3 g Pepton pro Kilo Körpergewicht intravenös einspritzt, wodurch für ca. 1 Stunde die Gerinnbarkeit aufgehoben wird. Nach den Untersuchungen von Heidenhain dürfte aber auch ein derartig behandeltes Blut Änderungen der Plasmabestandteile gegen die Norm aufweisen.

Blutserum erhält man, indem man Blut gerinnen läfst und nach 24—48 Stunden die klare gelbliche Flüssigkeit mit Pipetten vom

Coagulum abhebt, wobei man achtgeben muſs, daſs keine hämoglobinhaltigen Partikelchen des Blutkuchens mit abgesaugt werden.

Kleine Quantitäten Serum erhält man leicht in Kapillarröhrchen, deren Enden man nach 24stündigem ruhigen Stehenlassen abbricht, worauf das Coagulum vorsichtig aus der einen Öffnung mit Fingern oder Pincette herausgezogen wird, so daſs das Serum in dem Röhrchen zurückbleibt.

Zur schnellen Gewinnung von Serum empfiehlt es sich, das frisch entnommene Blut, bevor Gerinnung eingetreten ist, etwa $^1/_2$ Stunde lang zu zentrifugieren, ohne die Zusammensetzung des Blutes durch Zusatz chemischer Stoffe zu alterieren. Man erhält dann über der roten Blutkörperchenmasse eine gallertartige grauweiſse Masse, welche aus Fibrin und Serum besteht und aus der leicht einige Tropfen Serum zu gewinnen sind, die nach eigenen Untersuchungen die gleiche Konzentration wie das vom geronnenen Blute gewonnene Serum zeigen.

Bei allen auf die Gewinnung von klarem, d. h. nicht mit Hämoglobin vermischten Serum gerichteten Manipulationen muſs man äuſserst behutsam verfahren, da durch Erschütterung und Schütteln der Gefäſse, zumal bevor die Gerinnung eingetreten ist, ungemein leicht Blutfarbstoff in das Serum übertritt. Bei manchen Krankheiten ist das Hämoglobin anscheinend besonders locker an die Zellen gebunden, ebenso erhält man bei Hunden und Kaninchen leicht Hb-Übertritt in das Serum, und speziell möchte ich darauf aufmerksam machen, daſs beim Zentrifugieren durch Erschütterungen infolge unsanften Ganges der Zentrifuge leicht Hb in das Serum resp. Fibrin übertritt.

Hämoglobinämie nennt man den Zustand, in welchem gelöstes Hb im lebenden Blute cirkuliert. Man darf eine wirkliche Hämoglobinämie aber nur diagnostizieren, wenn bei der Entnahme und dem Gerinnenlassen des Blutes in so sorgfältiger Weise vorgegangen ist, daſs ein artifizieller Hb-Austritt mit Sicherheit auszuschlieſsen ist. In Fällen von Hämoglobinämie sieht das Serum makroskopisch rubinrot, oder wenn es sich um Methämoglobinämie handelt, sepiabraun aus. Spuren von Hb müssen spektroskopisch nachgewiesen werden.

Zu quantitativen Bestimmungen der Zusammensetzung des Blutserum genügen für klinische Zwecke:

a) Die Bestimmung des spez. Gewichtes, entweder nach der Methode von Schmaltz im Kapillarpyknometer oder der Methode von Hammerschlag durch Einbringen eines Tropfens in eine Chloroformbenzolmischung (s. S. 24).

Dasselbe ist beim Gesunden 1028—1030.

b) Die Bestimmung des Trockenrückstandes zur Ermittelung des Wassergehaltes (s. S. 24).

Beim Gesunden 10,0—10,5%.

c) Die Ermittelung des Stickstoffgehaltes nach Kjeldahl, wobei dieselben Momente wie beim ganzen Blute zu berücksichtigen sind (s. S. 25).

Beim Gesunden 1,2—1,4%.

7. Das Volumen der roten Blutkörperchen und des Serum.

Für die Bestimmung der Volumverhältnisse von Blutzellen und Blutflüssigkeit mufs man berücksichtigen, dafs wir keinen sicheren Anhaltepunkt haben, aus dem das quantitative Verhältnis des Plasma während der Cirkulation des Blutes im Lebenden beurteilt werden könnte, da es unbekannt ist, wieviel von der Flüssigkeit frei, wieviel in den Zellen aufgespeichert cirkuliert.

Auch die vom Blute aufserhalb des Gefäfssystems gewonnene Menge Serum ist nur mit gewissem Vorbehalt quantitativ zu verwerten, denn es hängt von der Methodik ab, wieviel Serum abgeschieden wird. Es ist hiernach leicht verständlich, dafs die quantitativen Verhältnisse von Zellen zu Serum bei gesunden Menschen von den einzelnen Autoren ziemlich stark abweichend angegeben werden, und es wird sich für klinische Zwecke einstweilen auch hier darum handeln müssen, Vergleichswerte bei Anwendung einer und derselben Methodik zu sammeln und nicht die Resultate einer Untersuchung mit der Methode A ohne weiteres solchen, die mittels der Methode B gewonnen sind, gegenüberzustellen. Besonders unsicher sind die Methoden, bei welchen das Blut mit Salzen in Substanz oder Lösung versetzt wird, um die Trennung von roten Blutkörperchen und Serum zu erleichtern, denn die Salze verhalten sich keineswegs indifferent gegenüber der Abscheidung des Serum, und ihr Einfluſs ist im Einzelfalle schwer mit Sicherheit zu bestimmen.

Das Volumen der r. Bl. beträgt beim Gesunden 45—50%.

a) Bei dem **Hämatokrit von Hedin und Gärtner** werden kleine Quantitäten Blut in einer Kapillarröhre aufgesaugt, mit einer bestimmten Menge von Kaliumbichromatlösung (2,5% Daland) verdünnt, zentrifugiert und die Sedimentmasse an einer Skala abgelesen (s. Apparat S. 31).

b) Bei der **spontanen Sedimentierung nach Biernacki** werden einige Kubikcentimeter Blut durch Venenpunktion entnommen, mit oxalsaurem Natron in Pulverform und zwar zu 0,2%, d. h. pro Kubikcentimeter Blut mit 0,002 g Natriumoxalat gemischt und in einem

kleinen, graduierten Gläschen sich selbst überlassen. Nach 24 bis 48 Stunden haben sich die roten Blutkörperchen zu Boden gesenkt, ihre Säule wird, sobald keine weitere Senkung eintritt, gemessen und mit der darüber befindlichen Flüssigkeitsschicht verglichen. Biernacki berücksichtigt bei seiner Methode aber nicht lediglich das Sedimentvolumen, sondern hält auch die Sedimentierungsgeschwindigkeit und die Kurve der Sedimentierung für klinisch bedeutungsvoll. (Von Ottfr. Müller neuerdings bestätigt.)

c) Der Blut-Voluminimeter von E. Grawitz basiert ebenfalls auf dem Prinzip der spontanen Sedimentierung und ist zu dem Zwecke konstruiert worden, um die so wichtige Volumbestimmung leichter und an kleinen Blutmengen (ohne Venenpunktion) ausführen zu können.

Der kleine Apparat enthält in einem Kästchen cylindrische Glasröhrchen, welche vor dem Gebrauche in ein Glas mit Natriumoxalat in Pulverform mehrmals eingestochen werden, so dafs die weifsen Krystalle des Salzes in dünner Schicht den Boden des horizontal gehaltenen Glasröhrchens bedecken.

In das so vorbereitete Glasröhrchen läfst man aus einem ergiebigen Schnitt in den Ohrzipfel schnell mehrere Tropfen Blut sich einsaugen, so dafs die Säule des Blutes mindestens $^3/_4$ der Länge der Glasröhre erfüllt.

Blut-Voluminimeter.

Nunmehr steckt man das Ende des Röhrchens, in welches das Blut eingetreten ist, in eine mit Wachs gefüllte kleine Hülse, stellt es vertikal in eins der Stecklöcher auf der oberen Platte des Apparates und läfst das Blut 24 Stunden lang sedimentieren.

Nach dieser Zeit findet sich am Boden der Blutsäule eine kleine rötlich-weifse Oxalatschicht, darüber das rote Blutsediment, über diesem eine mehr oder weniger dünne graue Schicht von Leukocyten und darüber die Serum-Schicht.

Man stellt jetzt das in der Hülse befindliche Röhrchen an dem Rahmen mit der Skala ein, dreht die Skala so, dafs der Nullpunkt genau an der Scheide zwischen Oxalat- und Blutschicht steht, und notiert die Höhe der ganzen Säule, sowie die Höhe des roten Volumens, woraus man unschwer den Prozentgehalt des Blutkörperchen-Volumens berechnet.

d) Bei dem **Bleibtreu'schen Verfahren** werden zwei oder mehrere Portionen Blut in bestimmten Verhältnissen mit 0,6 prozentiger NaCl-Lösung versetzt und in der hiernach abgeschiedenen Flüssigkeit der N-Gehalt nach Kjeldahl bestimmt. Durch Vergleichung des N-Gehaltes von verschieden verdünnten Sera kann man nach einer in Pflügers Archiv, Bd. LI, S. 151 entwickelten Formel indirekt das Volumen des Serum bestimmen, wobei allerdings die Voraussetzung gemacht ist, dafs die zugesetzte NaCl-Lösung den gleichen osmotischen Druck besitzt wie das zu untersuchende Blut.

e) Ein einfaches Verfahren besteht nach eigener Erfahrung darin, einige Kubikcentimeter Blut durch Venenpunktion zu gewinnen und in einem graduierten Gläschen etwa $^1/_2$ Stunde lang zu zentrifugieren. Bedingung ist, dafs das Blut schnell ausfliefst, so dafs die Zentrifugierung vor eingetretener Gerinnung beginnt. Die Zentrifuge mufs ohne Stofsen und Rütteln glatt arbeiten. An der Gradeinteilung kann man nach beendeter Zentrifugierung ohne weiteres das Volumen von roten Blutkörperchen und Serum ablesen.

8. Spektroskopische Untersuchungen.

Für den Nachweis qualitativer Veränderungen des Blutfarbstoffes, sowie für den Nachweis von Blutspuren im Harn und anderen Flüssigkeiten genügt ein sog. Taschenspektroskop, während für quantitative Hb-Bestimmungen (s. S. 29) ein gröfserer Apparat nötig ist.

Die sichere Erkennung der Absorptionsstreifen erfordert für zweifelhafte Verhältnisse viel Übung und es ist, wie L. Lewin neuerdings mit Recht hervorhebt, von grofser Wichtigkeit, die einzelnen Teile des Spektrum bei möglichst engem Spalt zu untersuchen, da schwache Absorptionsbänder bei starkem Lichteinfall leicht übersehen werden können. Das Fernrohr mufs genau eingestellt werden, und Lewin empfiehlt, die Blutuntersuchung zunächst immer an einer so dicken Schicht zu beginnen, dafs nur Rot und Orange durchgelassen werden, damit zunächst mit voller Sicherheit festgestellt wird, ob eine Absorption in Rot vorhanden ist. Weiterhin verdünnt man das Blut mit destilliertem Wasser auf 0,5—1,0 : 100 und untersucht es am besten in planparallelen Gläschen, die mit einer Klammer vor dem Apparate befestigt werden.

a) Oxyhämoglobin besitzt zwei Absorptionsspektra zwischen den Fraunhoferschen Linien D und E, von denen das nach Rot zu gelegene etwas schmäler und intensiver ist.

b) Reduziertes Hämoglobin, welches z. B. entsteht, wenn zu Oxyhämoglobin altes Schwefelammonium zugesetzt wird, zeigt an Stelle

der beiden erwähnten Streifen einen einzigen breiten Streifen zwischen D und E, der von besonderer Bedeutung resp. Entscheidung ist bei dem Nachweise von:

c) **Kohlenoxyd-Hämoglobin.** Diese häufige Blutvergiftung dokumentiert sich makroskopisch in der hellroten Färbung des Blutes beim Lebenden wie bei der Leiche, doch kommt eine solche hellrote Färbung auch bei anderen Vergiftungen vor. Spektroskopisch erscheinen zwei Absorptionsstreifen, die von denen des Oxyhämoglobin zunächst kaum zu unterscheiden sind. Setzt man aber dem CO-Blute Schwefelammonium zu, so tritt nicht das Spektrum des reduzierten Hb auf, sondern die beiden Ränder bleiben erhalten. Eine Schwierigkeit kann in diesen sonst einfachen Verhältnissen dadurch entstehen, dafs neben dem CO-Hb mehr oder weniger normales O_2-Hb bei jeder Kohlendunstvergiftung vorhanden ist, so dafs der Zwischenraum zwischen den beiden Spektren keineswegs vollkommen frei ist, sondern eben eine geringe Reduktion und also auch ein Reduktionsspektrum eintritt. Diese Schwierigkeit, auf welche L. Lewin besonders aufmerksam macht, wird meiner Ansicht nach am leichtesten dadurch überwunden, dafs man neben dem auf Kohlendunstvergiftung verdächtigen Blute eine Probe normalen Blutes in ganz gleicher Weise behandelt und die Spektra vergleicht.

d) **Methämoglobin** entsteht unter sehr zahlreichen Bedingungen im Lebenden durch Einwirkung blutkörperchenzerstörender Gifte und erscheint auch im Harn bei konsekutiver Hämoglobinurie. Die Farbe des Methämoglobinblutes ähnelt dem Sepiabraun, so dafs man Methämoglobin z. B. im klaren Serum und im Urin meist sehr leicht makroskopisch erkennen kann.

Das Spektrum des Methämoglobin ist dadurch ausgezeichnet, dafs ein Absorptionsstreifen in der Nähe der Fraunhofer'schen Linie F, ein anderer in Rot resp. Orange erscheint, und dafs bei Zusatz von Schwefelammonium das Spektrum des reduzierten Hb erscheint.

e) **Hämatin,** das eisenhaltige Produkt, welches bei Hb-Zerfall gebildet wird, kommt vor als „Hämatin in saurer Lösung" oder „Hämatin in alkalischer Lösung".

Die Absorptionsstreifen des Hämatin in saurer Lösung sind fast die gleichen, wie die des Methämoglobins in Rot, ferner zwischen den Linien D und E und bei F gelegen.

Das Hämatin in alkalischer Lösung zeigt einen Absorptionsstreifen, der annähernd mit dem einen Streifen des O_2-Hb zusammenfällt, nur etwas mehr nach Rot gerückt ist.

9. Blutkrystalle.

Die Darstellung der Teichmann'schen Häminkrystalle ist für die Erkennung kleinster Blutquantitäten nicht nur für forensische Zwecke von grofser Wichtigkeit, sondern ist klinisch z. B. für den sicheren Nachweis von Blut in den Fäces, welches aus dem Magen oder den obersten Darmpartien stammt, unentbehrlich.

Man läfst das zu untersuchende Material auf einem Objektträger unter Erwärmung antrocknen, bringt einen grofsen Tropfen Eisessig und ein Körnchen Kochsalz auf die Masse (bei Fäcesuntersuchungen ist das Kochsalz nicht nötig) dampft über der Flamme ohne zu starke Erhitzung ein und untersucht nach Aufbringung eines Tropfens Wasser und eines Deckglases bei mittelstarker Vergrörserung.

Die Häminkrystalle erscheinen meist haufenweise in grofser Menge als kleinste braune Rhomben mit spitzen Enden, manchmal auch als Büschelchen oder in Stäbchenform.

10. Alkalescenzbestimmungen.

Die Bestimmung der Alkalimengen im Blute stöfst auf grofse Schwierigkeiten. Der Kohlensäuregehalt im Blute wurde früher zu alkalimetrischen Untersuchungen bestimmt, in der Annahme, dafs der gröfste Teil der CO_2 im Blute an Alkalien gebunden sei und dafs also die Menge der gefundenen CO_2 in einem, wenngleich auch nicht ganz sicheren direkten Verhältnisse zu Menge des vorhandenen Alkali stehe. Diese Annahme hat sich indes aus verschiedenen Gründen als unhaltbar erwiesen, und da aufserdem die Ausführung der CO_2-Bestimmungen mit Schwierigkeiten technischer Art verbunden ist, so ist diese Methode für klinische Zwecke verlassen worden.

Titrimetrische Methoden wurden von Landois und Zuntz zur Bestimmung der Blutalkalescenz eingeführt.

a) Nach Landois wird die Titration für praktisch-klinische Zwecke in der Weise ausgeführt, dafs kleine abgemessene Quantitäten Blut in Gemische von konzentrierter neutraler Natriumsulfatlösung mit Weinsäurelösungen von verschiedener Verdünnung gebracht werden, worauf mit Lakmuspapier geprüft wird, welches Gemisch durch eine bestimmte Quantität Blut neutralisiert wird. (Die genaue Technik s. Landois, Physiologie, S. 16).

b) Von Zuntz und Loewy wurde nachgewiesen, dafs bei den Titrationen nach der älteren Methode nicht das ganze im Blute enthaltene Alkali zur Bestimmung komme, dafs besonders ein Teil der in den roten Blutkörperchen enthaltenen alkalischen Werte unberücksichtigt

bleibt und die mit den älteren Methoden ermittelten Werte daher zu niedrige Zahlen angeben.

Nach Loewy mufs das Blut lackfarbig gemacht werden durch Auflösung der roten Blutkörperchen, um das in diesen enthaltene Alkali für die Titrierung zugänglich zu erhalten. Zu diesem Zweck läfst Loewy in ein 50 ccm fassendes, an seinem Halsende graduiertes Gläschen, welches 45 ccm oxalsaures Ammon enthält, Blut einlaufen, notiert an den Marken das Volumen des Blutes und mischt die Oxalatlösung mit dem Blut, welches hierbei lackfarbig wird und nicht gerinnt. 5 ccm dieses Gemisches werden mit $^1/_{25}$ Normalweinsäurelösung titriert und die Reaktion durch Aufbringung eines Tropfens auf Lakmoïdpapier geprüft. Letzteres wird durch Tränken von Kopierpapier mit neutralisierter alkoholischer Lakmoïdlösung hergestellt. Die Randzone des durch Diffusion im Papier sich verteilenden Tropfens zeigt den Farbumschlag am deutlichsten, doch gehört bei diesen, wie auch den im folgenden erwähnten Titrationen eine gewisse Übung und Erfahrung zum Erkennen des richtigen Momentes des Farbumschlages.

Alkalimeter von Engel.

c) Der Blutalkalimeter von C. S. Engel stellt eine Modifikation des vorhergehenden Verfahrens dar und ist für Untersuchungen kleiner Quantitäten bestimmt. Nach dem Autor ist das Verfahren folgendes:

Ein grofser Blutstropfen wird in die Kapillarpipette bis zur Marke 0,05 hineingesogen, dann destilliertes Wasser nachgezogen, bis die Marke 5,0 erreicht ist. Nachdem leicht geschüttelt worden, wird das nun lackfarben gewordene Blut in das beigegebene Gläschen gebracht. Zur Titrierung wird in die Burette, die an dem auszuschraubenden Burettenhalter zu befestigen ist, eine $\frac{1}{75}$ Normalweinsäure gebracht, das ist 1 Gramm Acid. tartaricum auf 1 Liter Aq. dest. Es wird nun tropfenweise die Weinsäure so lange in die Blutlösung hineinfallen gelassen, bis ein auf das Lakmoidpapier gebrachter Blutstropfen an seinem Rande einen deutlichen roten Kreis zurückgelassen hat. Diese Endreaktion tritt bei normalem Blut etwa beim zehnten Weinsäuretropfen (etwa 0,5 ccm) ein. Die Blutmischung darf nicht mit dem Stab auf das Papier **gewischt** werden.

Berechnung. Angenommen, es sind 0,5 ccm Weinsäure zum Neutralisieren von 0,05 ccm Blut verbraucht worden, so werden für 100 ccm Blut 1000 ccm $\frac{1}{75}$ Normalweinsäure gebraucht. Da das Äquivalentgewicht der Weinsäure $\left(\frac{C4H6O6}{2}\right) = 75$,

das des Natriumhydrats (NaHO) = 40 beträgt, so sättigt ein Liter Wasser, in welchem 75 gr Weinsäure gelöst sind, 40 gr NaOH, also ein Liter $\frac{1}{75}$ Normalweinsäure $\frac{40}{75}$ g oder 533 mg NaOH. Die Alkalescenz von 100 ccm Blut entspricht also 533 mg NaOH.

d) Brandenburg rät von der Verwendung so kleiner Blutmengen wie bei dem Engel'schen Verfahren ab. Er fängt in einem graduierten Cylinder von 30 ccm, welcher mit 10 ccm 0,2% Ammonoxalatlösung beschickt ist, 5—8 ccm Blut aus der Vene auf, füllt auf 30 ccm auf und titriert gegen Lakmoïdpapier mit $^1/_{10}$ Normalweinsäurelösung.

Mit Recht verlangt Brandenburg, dafs gleichzeitig die Konzentration des Blutes, am besten durch N-Analyse, bestimmt wird, da durch den Eiweifsgehalt des Blutes die Alkalescenz wesentlich beeinflufst wird. (Zeitschr. f. klin. Med. B. XXXVI. 1899.)

Neuerdings ist von Brandenburg[1]) **die Alkalispannung des Blutes** in Krankheiten untersucht worden. Darunter wird nach dem Vorgange von Loewy-Zuntz die Menge diffusiblen Alkalis in 100 ccm Blut verstanden, bei Gesunden etwa 20% des gesamten mit Lakmoïd titrierten Blutalkalis. Die Trennung des diffusionsunfähigen an Eiweifs gebundenen und des diffusiblen Alkali geschah mittels der von Loewy und Zuntz dafür empfohlenen Dialyse. Für klinische Zwecke empfiehlt sich folgendes Verfahren. Durch Venenpunktion werden 80—100 ccm Blut entleert und durch Schlagen defibriniert. Die Alkaleszenz wird zunächst in 5 ccm Blut, das mit der vierfachen Menge Aqua destillata verdünnt und dadurch lackfarben gemacht ist, mit Lakmoïdpapier und Weinsäure titriert. Dann werden 20 ccm Blut in einen feuchten, unten mit Gummistopfen zugebundenen Pergamentschlauch von etwa 16 cm Höhe und 4 cm Lichtung gebracht, und der Schlauch in einen oben mit Deckel versehenen Glascylinder von 20 cm Höhe und 5 cm Lichtung hineingestellt, in dem sich 50 ccm einer mit isotonischer Kochsalzlösung hergestellten Natronlauge befinden, deren Prozentgehalt an Alkali den fünften Teil von dem des Blutes beträgt. Mit einem geeigneten dicken Glasstabe wird das Blut öfters umgerührt. Nach 24 stündiger Diffusion wird das Alkali in der Innen- und Aufsenflüssigkeit titriert. Beim Blute Gesunder, bei dem etwa 300 g Alkaleszenz und 3,2% Stickstoff gefunden wurden, betrug die Alkalispannung den fünften Teil, also 60 mg NaOH in 100 ccm Blut. Bei krankhaft verändertem Blut wurden gleichzeitig mehrere Dialysen angesetzt, in denen die Aufsenflüssigkeiten den vierten oder sechsten Teil an Prozenten Alkali hatten, wie das zu untersuchende Blut. Dadurch gelang es auch in patho-

[1]) Sitzung des Vereins für Innere Medizin vom 25. November 1901.

logischen Fällen ausreichend genau und schnell die Alkalispannung zu ermitteln und es fand sich, dafs dieselbe trotz wechselnder Gesamtalkaleszenz auffallend wenig schwankte. Etwas erniedrigte Werte wurden bei Pneumonie und vor allem bei Schrumpfniere und Urämie gefunden. Die molekuläre Konzentration, gemessen nach der Gefrierpunktserniedrigung, erwies sich abhängig von der Alkalispannung und war wie diese durch Kohlensäure-Einwirkung zu modifizieren, soweit nicht Retentionszustände bei Niereninsufficienz die Zusammensetzung des Blutes veränderten.

Die Alkalispannung scheint eine besondere Bedeutung bei der baktericiden Wirkung des Blutes und bei den Zuständen von Säurevergiftung zu haben. Nach Brandenburg kommt der Alkalispannung eine grofse klinische Bedeutung zu.

e) **F. Kraus** empfiehlt, das Blut lackfarben zu machen durch 2—4 ccm säurefreien Äthers, darauf den Äther bei 40° C. zu verjagen.

Die Eiweifsstoffe werden durch ein vierfaches Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt, filtriert und auf das Zehnfache verdünnt. Dann wird die Titration mit $^1/_4$ Normalschwefelsäure vorgenommen und zwar mit Methylorange als Indikator.

(Prag. med. Wochenschr. 1899. No. 14.)

f) **Bei der Methode von Schultz-Schultzenstein** wird mittels einer Kapillarröhre (vom Fleischlschen Hämometer) eine sehr geringe Quantität Blut (0,0075 g) aufgesogen, mit destilliertem Wasser und einer bestimmten Quantität von $^1/_{100}$ Normalschwefelsäure übersäuert. Dieser Mischung wird ein äufserst empfindlicher Farbstoff, Erythrosin (Jodeosin), als Indikator zugesetzt und mit $^1/_{600}$ Normalkalilauge titriert, bis eine deutliche Rotfärbung erkennbar ist. (Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1894, S. 801.)

II. Die Widerstandsfähigkeit der roten Blutkörperchen und der osmotische Druck der Blutflüssigkeit.

Zur Bestimmung der Resistenz der r. Bl. dient in erster Linie die Messung des osmotischen Druckes der Blutflüssigkeit.

Nach Hamburger nennt man „isotonisch“ eine Salzlösung, welche die gleiche wasseranziehende Kraft wie das zu untersuchende Blut hat. Man kann die Isotonie nach Hamburger an morphologischen Veränderungen der roten Blutzellen studieren, da isotonische Salzlösungen, d. h. solche von gleicher molekulärer Konzentration wie das Blutserum, die roten Zellen intakt lassen. Ist die Salzlösung konzentrierter, so nennt man sie „hyperisotonisch“, und „hypisotonisch“, wenn sie dünner ist. Mikroskopisch zeigen die r. Bl. in hyperisotonischen Salzlösungen Schrumpfungserscheinungen und Form-

veränderungen wie Poikilocytose, in hypisotonischen Lösungen quellen sie und geben Hämoglobin ab.

1. Die Hamburger'sche Methode erfordert gröfsere Mengen Blut, ist demgemäfs für klinische Zwecke nicht immer anwendbar. In einer Reihe von Reagiergläsern versetzt man Na-Cl-Lösungen verschiedener Konzentration mit ein paar Tropfen defibrinierten Blutes, schüttelt, läfst die Blutkörperchen sich senken und notiert nach 10—12 Stunden, in welchem Glase die Flüssigkeit einen Stich ins Rote hat.

Gleichzeitig werden einige Male je 5 ccm des zu untersuchenden Serum mit verschiedenen Quantitäten Wasser versetzt, dazu ein paar Tropfen des defibrinierten Blutes gethan und beobachtet, wo zuerst ein Stich ins Rote auftritt. Geben z. B. die roten Blutkörperchen in 0,61 % NaCl-Lösung Farbstoff ab und ebenso in 5 ccm Serum + 2,6 ccm Wasser, so hat das unverdünnte Serum eine wasseranziehende Kraft = einer NaCl-Lösung von $\frac{5+2,6}{5} \times 0,61 = 0,92$ %.

2. Nach v. Limbeck genügt es für klinische Zwecke, eine Anzahl kleiner Gläschen mit je 1 ccm verschieden starker Salzlösungen zu beschicken und in jedes einen Tropfen des frischen zu untersuchenden Blutes fallen zu lassen. Durch Schütteln mit einer Glasperle wird das Blut defibriniert. Nachdem sich die Blutkörperchen gesenkt, zeigt dasjenige Gläschen, in welchem eben kein Rot in der überstehenden Flüssigkeit zu erkennen ist, die Isotoniegrenze an.

3. Nach Landois wird ein abgemessenes Blutströpfchen (in der Mischpipette des Zählapparates von Zeiss bis Marke 1) mit der gleichen Menge 3 % NaCl-Lösung gemischt und so lange mit dest. Wasser gemischt, bis bei mikroskopischer Betrachtung sich alle roten Blutkörperchen gelöst haben.

4. Bei weitem einfacher ist die Bestimmung des osmotischen Druckes durch Ermittlung **der Herabsetzung des Gefrierpunktes** auszuführen.

Diese Methode basiert auf der Entdeckung von van t'Hoff, dafs gelöste Stoffe in einer Lösung denselben Druck ausüben, welchen sie bei gleicher Temperatur und Volumen als Gase ausüben würden. Diesen Druck der gelösten Stoffe bezeichnet man als „osmotischen" Druck.

Der osmotische Druck nimmt zu proportional mit der Zahl der in der Lösung befindlichen Moleküle und ferner mit der Steigerung der Temperatur.

Werden zwei verschiedene Flüssigkeiten von verschiedener molekulärer Konzentration direkt zusammengebracht, so findet alsbald eine gegenseitige Bewegung statt, welche die Differenzen der Konzentration ausgleicht, ein Vorgang, den man als Diffusion bezeichnet (van t'Hoff). Werden die beiden verschieden konzentrierten Flüssigkeiten dagegen durch eine Scheidewand getrennt, welche nur für das Lösungsmittel z. B. Wasser oder für die gelösten Stoffe z. B. Zucker oder Salze durchlässig ist (semipermeable Membran), so findet ein Durchtritt des Lösungsmittels oder des gelösten Stoffes durch die Membran statt (Endosmose und Exosmose), ein Vorgang, welcher durch eine genau bestimmbare Kraft — den osmotischen Druck — bewirkt wird.

Durch direkte Manometermessung läfst sich z. B. nachweisen, dafs eine 1% Zuckerlösung bei 7° einen osmotischen Druck von $^2/_3$ Athmosphären erzeugt.

Dieser osmotische Druck in verdünnten Lösungen spielt nun in der Physiologie bei zahllosen Vorgängen des Austausches von Flüssigkeit durch die Membranen der Organe und die Gefäfswände neben den eigentlichen sekretorischen Funktionen der Zellen eine unzweifelhaft aufserordentlich wichtige Rolle. Speziell beim Austausch von Flüssigkeit zwischen Blutplasma und Geweben durch die Kapillarwände kommen aufser anderen Funktionen der lebenden Gefäfswände die Gesetze des osmotischen Druckes zur Anwendung.

Durch die geistvollen Berechnungen von van t'Hoff hat sich ergeben, dafs neben anderen Methoden die Bestimmung der Erniedrigung des Gefrierpunktes in verdünnten Lösungen ein sicheres Merkmal der molekulären Konzentration, also des osmotischen Druckes ist, und da diese Bestimmungen an kleinere Mengen von Serum, Gewebsflüssigkeit etc. ausführbar sind, so ist diese Methode für klinische Zwecke sehr brauchbar.

Nach van t'Hoff ist der osmotische Druck in verdünnten Lösungen rechnerisch zu bestimmen und zwar entspricht die Herabsetzung des Gefrierpunktes um je einen Grad Celsius unter 0° einem osmotischen Drucke von rund 12 Atmosphären.

Mit dem Werte Δ bezeichnet man die Erniedrigung des Gefrierpunktes einer verdünnten Lösung.

Für das gesunde menschliche Blut beträgt dieser Wert durchschnittlich 0,56° C.

Zur praktischen Ausführung derartiger Bestimmungen dient am besten nach Beckmann (1888) der beistehend abgebildete Apparat. Das Glas *a* enthält ein in

0,01 Grade geteiltes Thermometer und einen aus Platindraht gebogenen Rührer. Es wird mit einer gewogenen Menge des Lösungsmittels beschickt, in ein etwas weiteres Glas *b* gesetzt, welches als Luftmantel dient und dann in den Deckel eines starken Glases *c* gesetzt, welches Wasser oder eine Kältemischung enthält, deren Temperatur 2° bis 5° unter dem Erstarrungspunkte der Flüssigkeit liegt. Man beobachtet nun unter stetem Rühren (dessen Wirkung noch durch einige in *a* hineingebrachte Schnitzel von Platinblech unterstützt wird) das Thermometer. Es sinkt anfangs infolge von Überkältung unter den Gefrierpunkt, um sich alsdann plötzlich, indem sich feste Substanz ausscheidet, auf denselben zu erheben. Hat man auf diese Weise zuerst genau den Erstarrungspunkt des Lösungsmittels bestimmt, so bringt man (aus einem gewogenen Glase) ein bekannte Menge des zu untersuchenden Stoffes in *A* durch den Stutzen hinein, vermischt und wiederholt den Versuch. Die Erstarrung tritt jetzt bei niedrigerer Temperatur ein, und der Unterschied beider Temperaturen ist der Wert *Δ* (nach Ostwaldt, Grundrifs der allg. Chemie).

Für Untersuchungen am menschlichen Blute kann man entweder das Blut selbst benutzen, nachdem man es durch Schlagen mit einem Stabe defibriniert hat, oder man nimmt das durch Koagulation oder Centrifugieren gewonnene Serum. Die Flüssigkeitsmenge, die für den Beckmann'chen Apparat erforderlich ist, beträgt 8—10 ccm, man mufs also von defibriniertem Blute die gleiche Quantität mittels Venenpunktion entnehmen, für Serum-Bestimmungen mindestes die doppelte Menge von Blut, um 10 ccm Serum zu erhalten.

12. Jodreaktion im Blute.

Behandelt man lufttrockenes Blut mit Jod, so lassen sich bei Gesunden und besonders stark in gewissen Krankheiten braungefärbte kleine Schollen nachweisen, die besonders in der peripherischen Zone des Leukocytenprotoplasma, aber auch extracellulär vorkommen. Über die Bedeutung dieser jodophilen Substanzen ist im Kap. „Leukocyten" ausführlich berichtet.

Für das Studium dieser im Blute meist spärlich vertretenen Reaktion empfehlen sich Eiterzellen der verschiedensten Provenienz, d. h. solche aus bakteriellen Infektionsherden ebenso wie solche aus sog. aseptischen Eiterungen, da in diesen Zellen stets sehr ausgesprochene Jodreaktion auftritt.

Zur Untersuchung läfst man das auf dem Deckglas ausgestrichene

Blut an der Luft trocknen und bettet es dann ohne weitere Fixation in einem Tropfen einer Jodgummilösung ein:

Jod. pur.	1,0
Kal. jodat.	3,0
Aqu. destill.	100,0
Gummi arab.	im Überschufs.

Ehrlich empfiehlt, das Präparat in ein geschlossenes, Jodkrystalle enthaltendes Gefäfs zu legen, in dem es sich in wenig Minuten dunkelbraun färbt und es dann mit einer gesättigten Lävuloselösung einzubetten.

13. Fett im Blute.

Zum qualitativen Nachweis von Fett kann man dasselbe makroskopisch am deutlichsten dadurch sichtbar machen, dafs man das Blut in dünnwandigen Kapillarröhrchen auffängt, und diese horizontal einige Zeit liegen läfst, worauf die oberste Schicht des Blutes wie mit Mehlstaub bestäubt, rahmartig aussieht. In vielen Fällen gelingt es übrigens, das Fett in Form allerfeinster Tröpfchen mittels Ölimmersion bei starker Abblendung im Plasma sichtbar zu machen. Nach Gumprecht kann man an Deckglas-Trockenpräparaten zunächst eine Färbung mit Osmiumsäure vornehmen, wodurch die Tröpfchen schwarz gefärbt werden, und nachher zum sicheren Nachweise der Fettnatur derselben diese gefärbten Tröpfchen durch Eintauchen des Deckglases in Äther, Xylol etc. zum Auflösen bringen.

Quantitativ ist das Fett im Blute von Bönniger (Zeitschr. f. klin. Med. B. XLII) und von Engelhardt (D. Arch. f. klin. Med. B. LXX) bestimmt worden, doch sind die Untersuchungsresultate beider recht verschieden. Die Methodik mufs in den Originalien nachgesehen werden.

Tafel I.

Fig. 1.

Fig. 2.

Erythroblasten des normalen menschlichen Knochenmarkes.
Megaloblasten und Normoblasten. (Färbung: Methylenblau.)
Oben Mitose. Radiäre Kernstruktur.
Unten Pyknose. (Färbung: Ziemann.)

Fig. 3.

Erythroblasten.
Oben Mitose, drei pyknotische Kerne.
(Färbung: Eosin — Hämatoxylin.)

Fig. 4.

Rote Zellen der Cirkulation.
Normocyten. Polychromatophile.
Erythroblasten. (Eosin — Methylenblau.)

Fig. 5.

Megalocyten, Mikrocyten, Poikilocyten.
Körnige Degeneration. (Methylenblau.)

Fig. 6.

Karyolytische Figuren.
(Eosin — Hämatoxylin.)

Vergr.: 800.

Blut an der Luft trocknen und bettet es dann ohne weitere Fixation in einem Tropfen einer Jodgummilösung ein:

Jod. pur. 1,0
Kal. jodat. 3,0
Aqu. destill. 100,0
Gummi arab. im Überschufs.

Ebstein empfiehlt, das Präparat in ein geschlossenes, Jodkrystalle enthaltendes Gefäfs zu legen, in dem es sich in wenig Minuten dunkelbraun färbt und es dann mit einer gesättigten Lävuloselösung zu entfetten.

13. Fett im Blute.

Zum qualitativen Nachweis von Fett kann man dasselbe makroskopisch am deutlichsten dadurch sichtbar machen, dafs man das Blut in dünnwandigen Kapillarröhrchen auffängt, und diese horizontal einige Zeit liegen läfst, worauf die oberste Schicht des Blutes wie mit Mehlstaub bestäubt, rahmartig aussieht. In vielen Fällen gelingt es übrigens, das Fett in Form allerfeinster Tröpfchen mittels Ölimmersion bei starker Abblendung im Plasma sichtbar zu machen. Nach **Gumprecht** kann man an Deckglas-Trockenpräparaten zunächst eine Färbung mit Osmiumsäure vornehmen, wodurch die Tröpfchen schwarz gefärbt werden, und nachher zum sicheren Nachweise der Fettnatur derselben diese gefärbten Tröpfchen durch Eintauchen des Deckglases in Äther, Xylol etc. zum Auflösen bringen.

Quantitativ ist das Fett im Blute von Bönniger (Zeitschr. f. klin. Med. B. XLII) und von Engelhardt (D. Arch. f. klin. Med. B. LXX) bestimmt worden, doch sind die Untersuchungsresultate beider recht verschieden. Die Methodik mufs in den Originalien nachgesehen werden.

Tafel I.

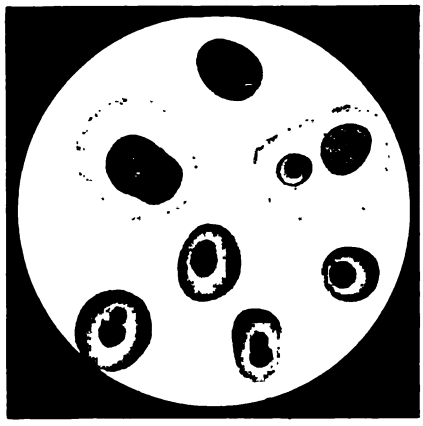


Fig. 1.

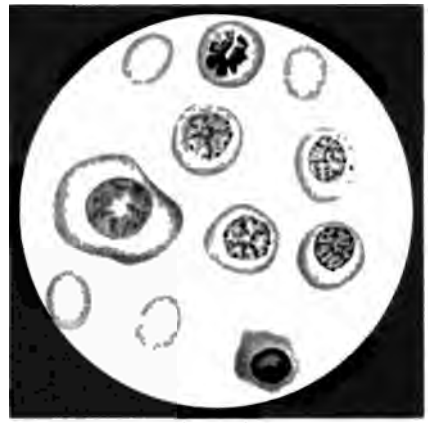


Fig. 2.

Erythroblasten des normalen menschlichen Knochenmarkes.
Megaloblasten und Normoblasten. (Färbung: Methylenblau.)
Oben Mitose. Radiäre Kernstruktur.
Unten Pyknose. (Färbung: Ziemann.)

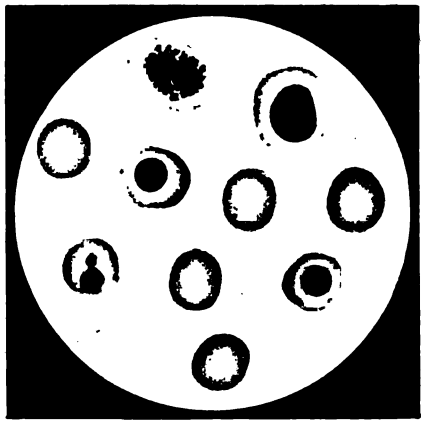


Fig. 3.

Erythroblasten.
Oben Mitose, drei pyknotische Kerne.
(Färbung: Eosin — Hämatoxylin.)

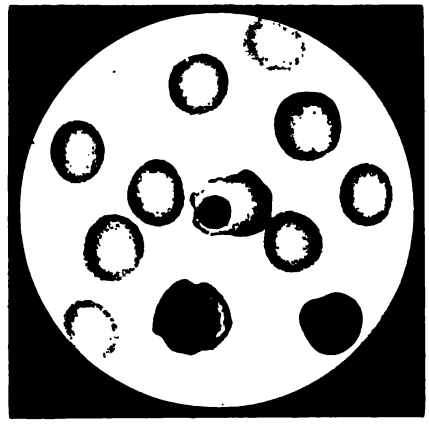


Fig. 4.

Rote Zellen der Cirkulation.
Normocyten. Polychromatophile.
Erythroblasten. (Eosin — Methylenblau.)

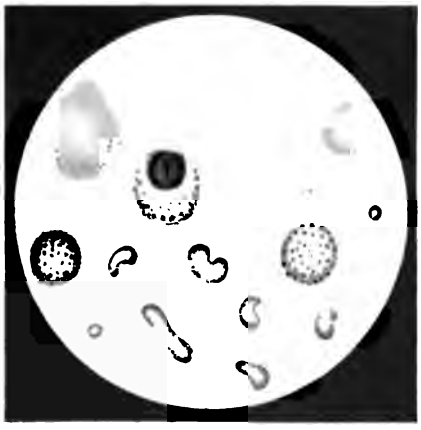


Fig. 5.

Megalocyten, Mikrocyten, Poikilocyten.
Körnige Degeneration. (Methylenblau.)

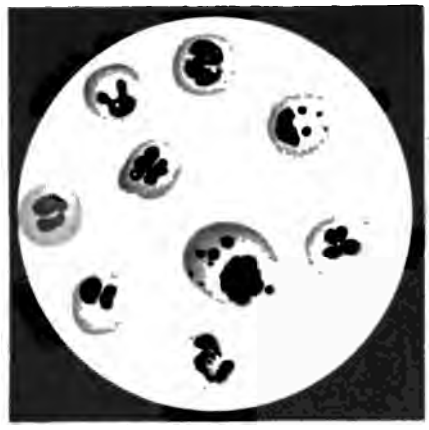


Fig. 6.

Karyolytische Figuren.
(Eosin — Hämatoxylin.)

Vergr.: 800.

W. O. Haase, ad. nat. del. Verlag von Otto Enslin, Berlin. Lith. v. C. Kirst & Co., Leipzig.

Tafel II.

Fig. 1.

Fig. 2.

Leukocyten des gesunden menschlichen Blutes. (Färbung: Triacid.)

Lymphocyten, polynukleäre Neutrophile. Eosinophile, Übergangsformen.

Fig. 3.

Fig. 4.

Leukocyten des gesunden menschlichen Knochenmarkes.

Neutrophile, eosinophile, basophile, granulierte Einkernige. Homogene Einkernige. In der Mitte: Stammzelle.

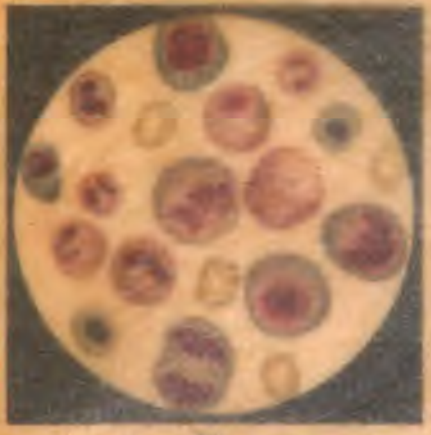


Fig. 5.

Leukocytotisches menschliches Mark. Kernteilungen. Übergangsformen. (Färbung: Ziemann — Romanowski.)

Fig. 6.

Blutplättchen. Oben chromatinhaltige Formen. Unten Erythrocyten-Abschnürung (nach Arnold).

W. H. Busse, ad. nat. del. Verlag von Otto Fuchs, Berlin. Lith. v. C. Klitz & Co., Leipzig.

Tafel II.

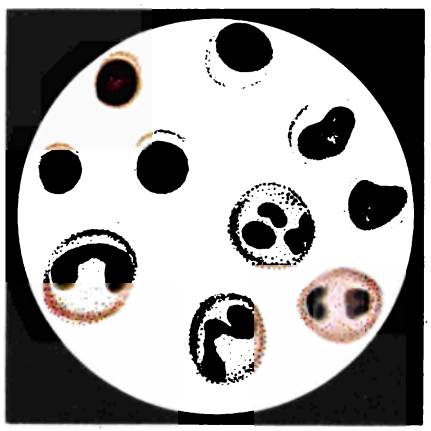


Fig. 1.

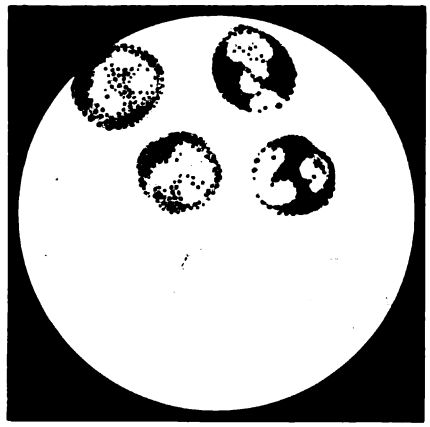


Fig. 2.

Leukocyten des gesunden menschlichen Blutes. (Färbung: Triacid.)
Lymphocyten, polynukleäre Neutrophile. Eosinophile, Übergangsformen.

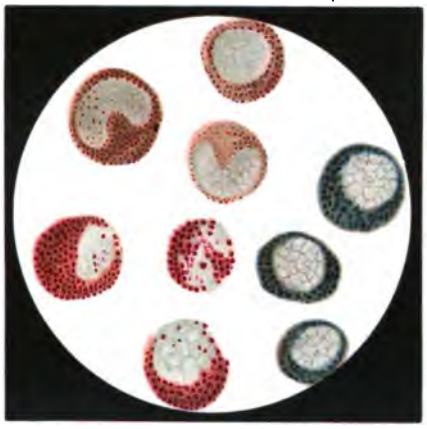


Fig. 3.

Fig. 4.

Leukocyten des gesunden menschlichen Knochenmarkes.
Neutrophile, eosinophile, basophile granulierte Einkernige. Homogene Einkernige. In der Mitte: Stammzelle.

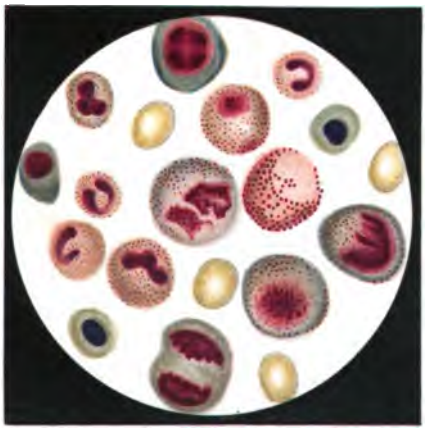


Fig. 5.

Leukocytotisches menschliches Mark.
Kernteilungen. Übergangsformen.
(Färbung: Ziemann — Romanowski.)

Fig. 6.

Blutplättchen.
Oben chromatinhaltige Formen. Unten Erythrocyten-Abschnürung (nach Arnold).

W. O. Haase, ad. nat. del. Verlag von Otto Enslin, Berlin. Lith. v. C. Kirst & Co., Leipzig.

Tafel III.

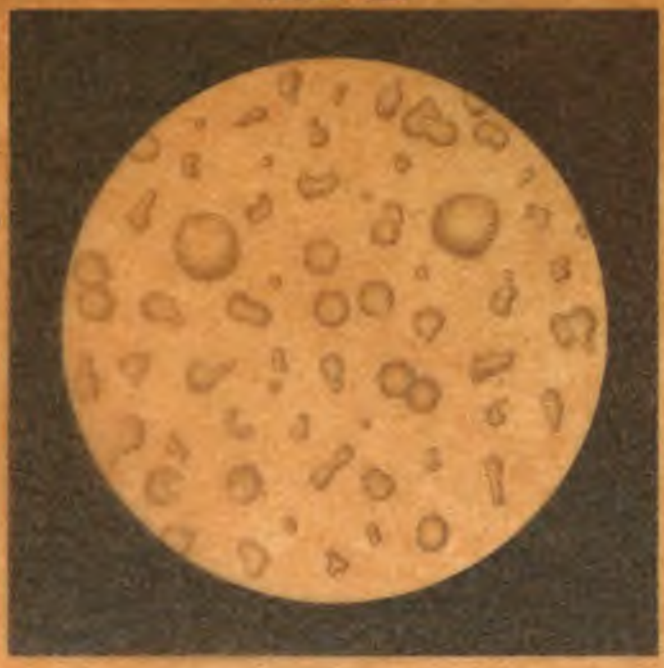


Fig. 1.

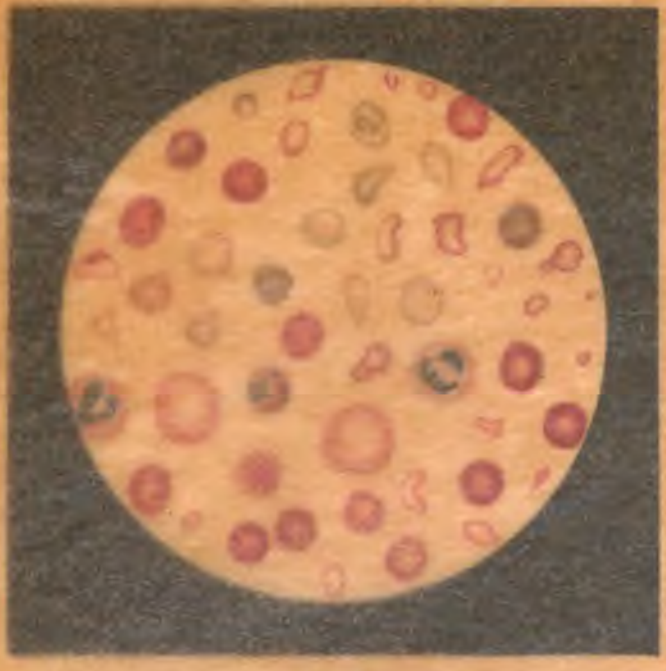


Fig. 2.

Tafel III.

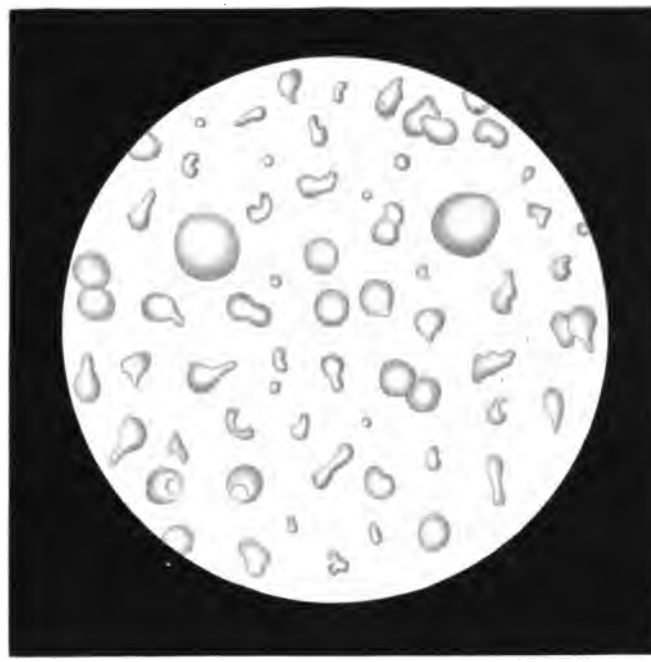


Fig. 1.
Frisches Blutpräparat von perniciöser Anämie.

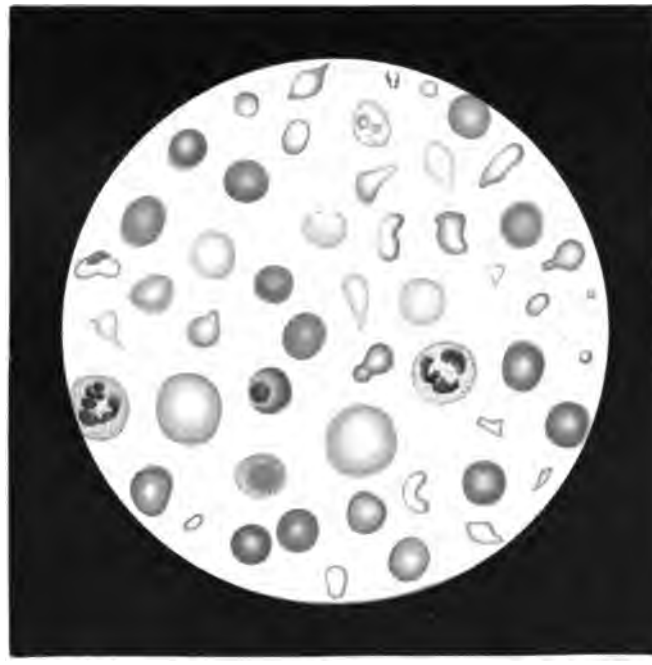


Fig. 2.
Blut bei perniciöser Anämie. Färbung: Eosin — Methylenblau.

W. O. Haase, ad. nat. del. Verlag von Otto Enslin, Berlin. Lith. v. C. Kirst & Co., Leipzig.

Tafel IV.

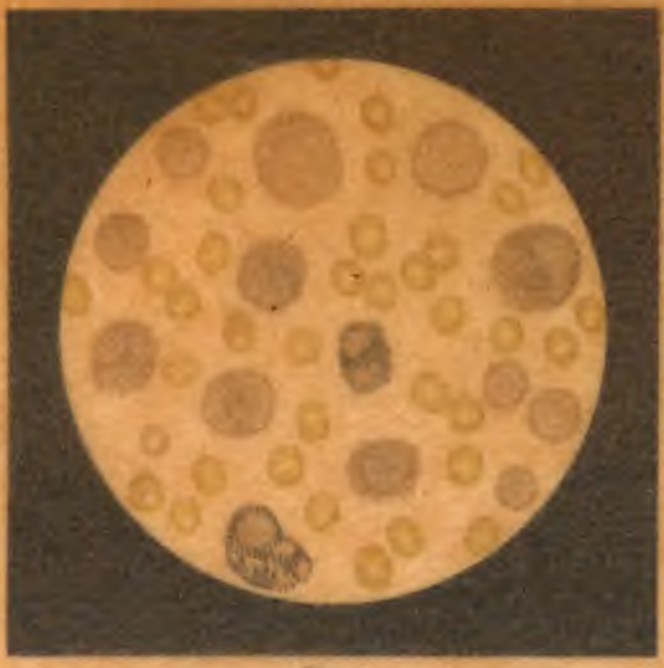


Fig. 1.
Frisches Blutpräparat von gemischtzelliger Leukämie.

Fig. 2.
Blutpräparat von gemischtzelliger Leukämie.
(Färbung: Ziemann – Romanowski.)

W. O. Reiss, ad. nat. del. Verlag von Otto Enslin, Berlin. Lith. v. C. Kirst & Co., Leipzig.

Tafel IV.

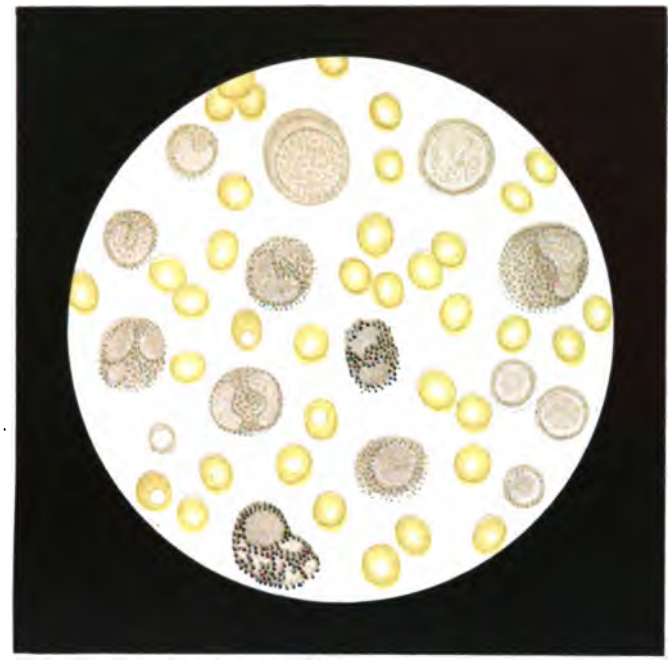


Fig. 1.

Frisches Blutpräparat von gemischtzelliger Leukämie.

Fig. 2.

Blutpräparat von gemischtzelliger Leukämie.
(Färbung: Ziemann — Romanowski.)

W. O. Haase, ad. nat. del. Verlag von Otto Enslin, Berlin. Lith. v. C. Kirst & Co., Leipzig.

Fig. 1

Fig. 2

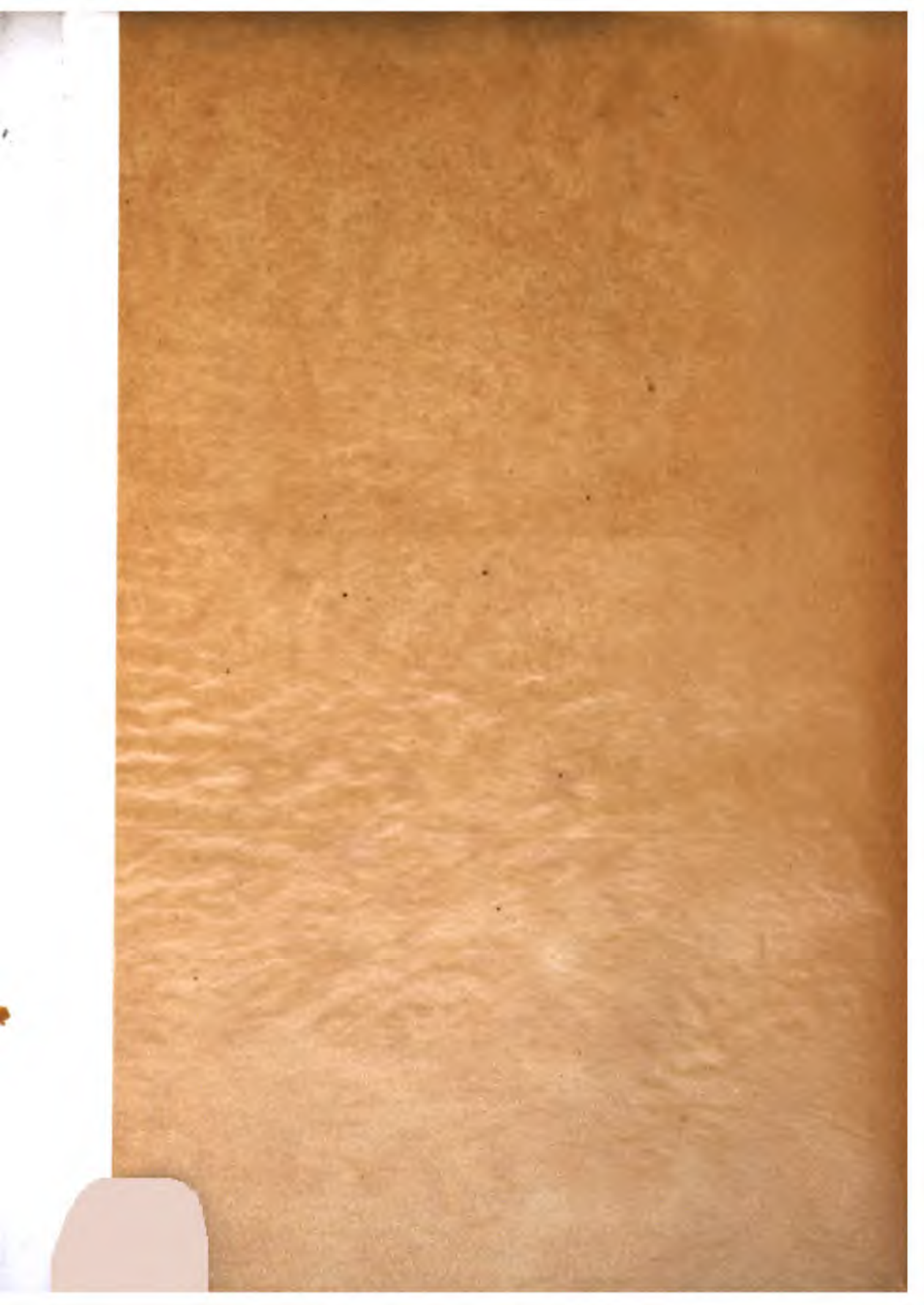
Fig. 3

Fig. 4

Typen der Teilungsformen.

Fig. 5.

Hämosporidien des Frosches. des italienischen Sperlings (nach Ziemann).



Tafel V.

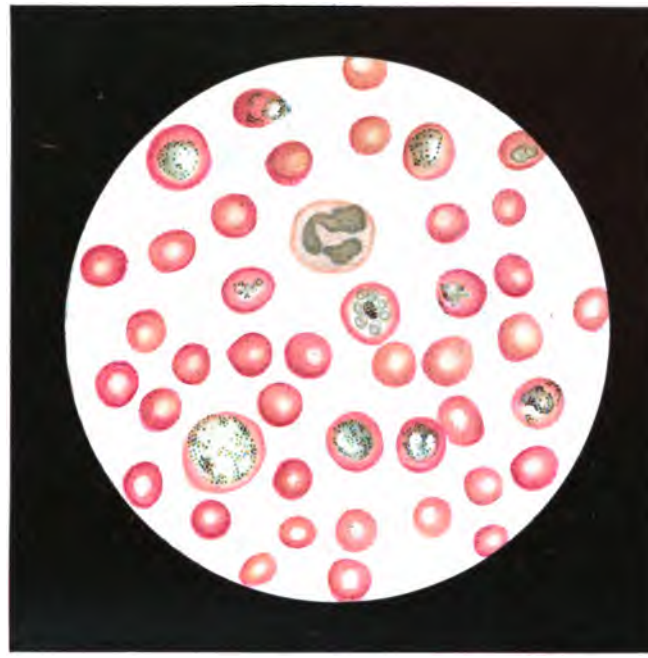


Fig. 1.

Blutpräparat von Malaria tertiana. (Färbung: Eosin — Methylenblau.)
In der Mitte reife Teilungsform.

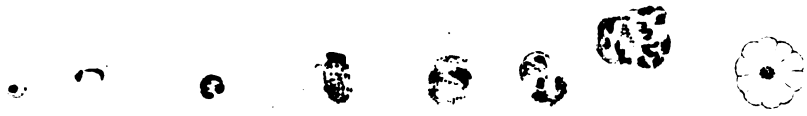


Fig. 2.

Entwickelungstypen des Quartanparasiten.

Fig. 3.

Typen des Tertianparasiten (nach Ziemann).

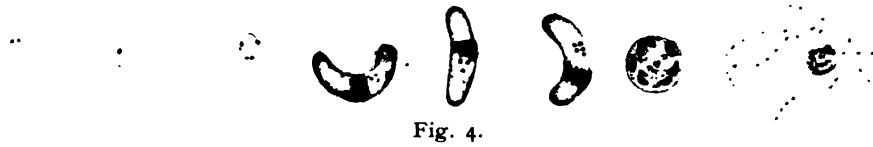


Fig. 4.

Typen des Tropicaparasiten.

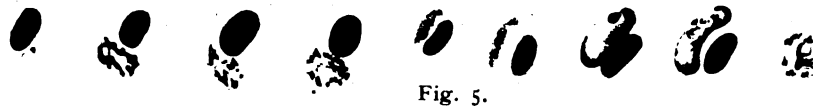


Fig. 5.

Hämosporidien des Frosches, des italienischen Sperlings (nach Ziemann).

W. O. Haase, ad. nat. del. Verlag von Otto Enslin, Berlin. Lith. v. C. Kirst & Co., Leipzig.

COUNTWAY LIBRARY
HC 2161 U

7.J.1902.2
Methodik der klinischen Blut-Un1902
Countway Library AGX2321
3 2044 045 071 578

7.J.1902.2
Methodik der klinischen Blut-Un1902
Countway Library AGX2321
3 2044 045 071 578